

Aus dem Institut für Physiologie
der Südd. Versuchs- und Forschungsanstalt
für Milchwirtschaft Weihenstephan
der Technischen Universität München

Direktor: Professor Dr. Heinrich Karg

Versuche zur Freisetzung von Luteinisierungshormon
mit einem synthetischen Releasinghormon sowie zur Wirkung
von Prostaglandinen auf die Zyklussteuerung beim Rind

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der
veterinär-medizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von

Max Hartl

aus Oberhummel
bei Freising/Obb.

München 1974

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. E. Dahme
Referent: Prof. Dr. H. Karg
Korreferent: Priv.-Doz. Dr. J. Rüsse
Tag der Promotion: 26. Juli 1974



MEINEN ELTERN

Inhaltsverzeichnis

1. Vorbemerkung	1
2. Literaturteil	2
2.1. Das Hypothalamus-Hypophysenvorderlappensystem zur Steuerung der Gonadenfunktion	2
2.1.1. Gonadotropinbefunde in Beziehung zur Gonadenfunktion beim Rind	2
2.1.2. Episodische Schwankungen der Luteini- sierungshormonkonzentration bei ver- schiedenen Spezies	4
2.1.3. Gonadotropinfreisetzung durch Re- leasinghormone	5
2.1.3.1. Das synthetische Dekapeptid Gn-RH und seine Spezifität ...	5
2.1.3.2. Ansprechbarkeit der Hypophyse auf Gn-RH vor der Pubertät bei verschiedenen Spezies	6
2.1.3.3. Ansprechbarkeit der Hypophyse auf Gn-RH bei verschiedenen Zyklusphasen	7
2.1.4. Der "short-loop-feedback"	8
2.1.4.1. Biochemische Mechanismen	8
2.1.4.2. Konditionierung durch Sexual- hormone	10
2.2. Steuerung der Luteolyse im Zyklus	10
2.2.1. Befunde über vom Uterus ausgehende Wirkungen auf die Luteolyse	10

2.2.2. Prostaglandine und ihr Wirkungsmechanismus als luteolytisch aktive Substanzen	11
2.2.2.1. Prostaglandine, chemische Struktur, Entdeckung	11
2.2.2.2. Analytische Werte über Prostaglandine in Bezug auf Zyklus und Gravidität	13
2.2.2.3. Funktionelle Hypothesen zur luteolytischen Prostaglandinwirkung	14
2.2.3. Bisherige Versuche zur Zyklussynchronisation mit Hilfe von Prostaglandin $F_{2\alpha}$ und analogen Verbindungen bei verschiedenen Spezies	18
3. Methodischer Teil	23
3.1. Tiermaterial	23
3.2. Blutentnahmetechnik	23
3.3. Rektale Untersuchung	25
3.4. Elektrische Widerstandsmessung des Vaginalschleims	25
3.5. Radioimmunologische Bestimmungsmethode für LH. 26	
3.6. Bestimmung von Progesteron	27
3.7. Präparate Gn-RH, Prostaglandin $F_{2\alpha}$, Prostaglandinanalogue ICI 80996	27

4. Ergebnisse	29
4.1. Normalwerte und Schwankungen von Luteini- sierungshormon im Rinderblut	29
4.1.1. Versuche mit juvenilen Tieren	29
4.1.1.1. Männliche Tiere	29
4.1.1.2. Weibliche Tiere	31
4.1.1.3. Kastrationsversuch	36
4.1.2. Versuche mit geschlechtsreifen Tieren	38
4.1.2.1. Männliche Tiere	38
4.1.2.2. Weibliche Tiere	38
4.2. LH-Freisetzung nach Injektion des synthe- tischen Gn-RH	41
4.2.1. Versuche mit männlichen Kälbern	41
4.2.1.1. Dosis von Gn-RH, gewichts- bezogen	41
4.2.1.2. Dosis von Gn-RH, konstant ...	49
4.2.2. Versuche mit weiblichen Kälbern	49
4.2.2.1. Dosis von Gn-RH, gewichts- bezogen	49
4.2.2.2. Dosis von Gn-RH, konstant ...	55
4.2.3. Versuche bei Kalbinnen während ver- schiedener Zyklusphasen	59
4.3. Versuche zur Luteolyse und Zyklussynchroni- sation mit Hilfe von Prostaglandinen	61
4.3.1. Versuche mit Prostaglandin $F_{2\alpha}$	61
4.3.2. Vorversuche mit dem Prostaglandin- analog ICI 80996	71

4.3.3. Verwendung des Präparates ICI 80996 zur Zyklussynchronisation mit an- schließender Besamung und gleichzei- tiger Injektion von Gn-RH	78
5. Diskussion	84
5.1. Normalwerte und Schwankungen des Luteini- sierungshormons im Rinderblut	84
5.2. LH-Freisetzung durch Gn-RH	87
5.3. Versuche mit Prostaglandinen	89
6. Zusammenfassung	94
7. Literaturverzeichnis	98
Lebenslauf	114

Abkürzungen

LH	=	Luteinisierungshormon
FSH	=	Follikelstimulierendes Hormon
Gn-RH	=	Gonadotropin Releasinghormon
PMSG	=	Pregnant Mare Serum Gonadotropin
PgF _{2α}	=	Prostaglandin F _{2α}
HVL	=	Hypophysenvorderlappen
i.u.	=	intrauterin
i.v.	=	intravenös
i.m.	=	intramuskulär
C.l.	=	Corpus luteum
ml	=	Milliliter
mg	=	10 ⁻³ Gramm
µg	=	10 ⁻⁶ Gramm
ng	=	10 ⁻⁹ Gramm

1. Vorbemerkung

Die Steuerung der Ovarfunktion stellt heute ein praktisches Anliegen dar. Physiologisch liegen dabei Schlüsselfunktionen wie die Regulation des Hypothalamus-Hypophysenvorderlappensystems oder der Mechanismus der Luteolyse zugrunde.

In den letzten Jahren sind durch Fortschritte in der Gonadotropinanalytik neue wissenschaftliche Ansatzmöglichkeiten erzielt worden; dabei wird insbesondere das Gonadotropin LH in der vorliegenden Arbeit herausgestellt. Die inzwischen erarbeiteten schematischen Werte für den Zyklus sind einer Kritik bedürftig, da sich herausgestellt hat, daß, abgesehen vom präovulatorischen LH-Peak, die sogenannten Basiswerte bestimmten Schwankungen unterliegen. Diese Frage wurde im einleitenden Teil besonders berücksichtigt.

Für die biotechnische Manipulation sind in den letzten Jahren zwei prinzipiell neue Präparate ins Gespräch gekommen. Zum einen handelt es sich um ein Gonadotropinreleasinghormon, zum anderen um Prostaglandine, denen eine starke luteolytische Fähigkeit, d.h. eine gelbkörperauflösende Wirkung, nachgesagt wird.

Unter Berücksichtigung der analytischen Vorgaben wurde die Anwendung dieser Präparate weiter erprobt.

2. Literaturteil

2.1. Das Hypothalamus-Hypophysenvorderlappensystem zur Steuerung der Gonadenfunktion

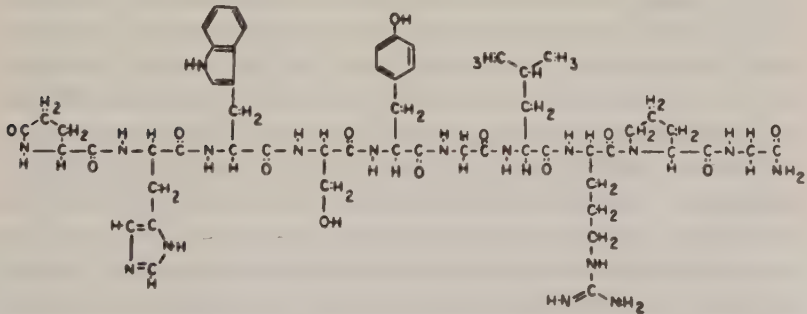
Die allgemein anerkannten, die Gonadenfunktion steuernden hormonellen Regelkreise sind in zahlreichen Lehrbüchern und Abhandlungen ausführlich dargelegt, weshalb sie hier nicht weiter erörtert werden sollen. Im Folgenden soll nur auf neuere analytische Werte der gonadotropen Hormone und auf die Ansprechbarkeit der Hypophyse unter verschiedenen Aspekten eingegangen werden.

2.1.1. Gonadotropinbefunde in Beziehung zur Gonadenfunktion beim Rind

Für die LH-Untersuchungen beim Rind war unter anderem die Entwicklung eines radioimmunologischen Bestimmungsverfahrens durch Karg & Schams (1968) und Schams & Karg (1969 a) entscheidend. Aus zahlreichen Messungen ergab sich eine charakteristische Verlaufskurve für LH im peripheren Rinderblut während des Zyklus, mit kontinuierlichen Basiswerten um 1,5 - 2 ng/ml Plasma (Schams & Karg, 1969 b), sowie einem präovulatorischen Gipfelwert am Tag vor der Ovulation (Schams & Karg, 1969 a, b; Gay et al., 1970; Henricks et al., 1970). Dieser präovulatorische LH-Gipfel, der nach Schams & Butz (1972 b) $23,0 \pm 3,7$ Stunden vor der Ovulation auftritt (siehe dazu Tab. 1), wird als deren entscheidender Auslösemechanismus angesehen. Neben diesem präovulatorischen LH-Gipfel fanden Karg et al. (1967) und Karg & Schams (1970) bei etwa 20 % der untersuchten Tiere auch um den 9. Tag nach der Ovulation einen signifikanten LH-Anstieg, ein Befund, über den auch von Hansel & Snook (1970) sowie von Bujanow (1972) in ähnlicher Weise berichtet wurde. Während sich in

Tabelle 1 Zusammenhang zwischen Brunst, LH-Werte im Blut und Zeitpunkt der Ovulation

	Stunden	Anzahl der Tiere	Anzahl der Beobachtungen
Brunstdauer	$16,0 \pm 5$	19	28
Zeitspanne LH-Peak - Ovulation	$23,0 \pm 3,7$	19	37
Dauer des LH-Peaks	$5,0 \pm 1,3$	19	34
Zeitspanne Brunstbeginn - LH-Peak	$6,5 \pm 2,5$	19	26



PYROGLU-HIS-TRP- SER - TYR-GLY-LEU- ARG-PRO-GLY-NH₂

Abb. 1 Strukturformel des synthetischen Gn-Releasing-hormons (Matsuo et al., 1971 a)

den letzten Jahren eine relativ klare Vorstellung über die Bedeutung von LH für die Funktionsabläufe am Ovar herausgebildet hat, nämlich Luteotropie und Ovulationsauslösung, sind die spezifischen Effekte von FSH nur unvollständig bekannt. Diesem Hormon wird eine Stimulierung des Follikelwachstums zugeschrieben. Wie man heute weiß, treten 2 - 4 Tage vor dem präovulatorischen LH-Gipfel sowie gleichzeitig mit diesem FSH-Anstiege auf (Karg, 1972).

2.1.2 Episodische Schwankungen der Luteinisierungshormonkonzentration bei verschiedenen Spezies

Untersuchungen an kastrierten Ratten (Gay & Sheth, 1972), Menschen (Boyar et al., 1972, Murray & Corker, 1972), am ovariectomierten Schaf (Butler et al., 1972) sowie am Rind (Katongole et al., 1971) ergaben, daß das LH im Blut gewissen Schwankungen unterworfen ist. Souvatzoglou et al. (1973) untersuchten die funktionelle Bedeutung der "episodischen" LH-Sekretion. Sie entnahmen 14 gesunden, erwachsenen Männern und Frauen Blut, und zwar 4 Stunden lang in 10- bis 15-minütlichen Abständen. Dabei fanden sie plötzliche LH-Erhöhungen, die bis zu 286 % über den niedrigsten LH-Werten lagen. Diese "episodische" LH-Sekretion zeigte sich auch bei Kindern mit Pubertas praecox vera, fehlte jedoch bei Kindern vor der Pubertät, bei hypophysektomierten Patienten und bei Kindern mit Pubertas praecox vera nach Behandlung mit Cyproteronacetat. Daraus schließen die Autoren, daß diese "episodische" LH-Sekretion die normale Funktion zwischen Hypothalamus, Hypophyse und Gonaden darstellt.

Boyar konnte bei seinen Versuchen keinen Rhythmus feststellen, ebenso wenig einen Unterschied im LH-Spiegel während Phasen des Wachens oder Schlafens. Das LH-Sekretionsmuster ist jedoch gekennzeichnet durch eine Reihe von irregulär auftretenden LH-Peaks mit raschem Anstieg und langsamem Abfall.

Katangole et al. (1971) kam beim Bullen zu ähnlichen Ergebnissen. Er fand in einem Zeitraum von 24 Stunden 5 - 10 LH-Erhöhungen, die auch keinen Zusammenhang zum Tageslicht, zur Futteraufnahme oder zum Schlaf erkennen ließen.

Nicht irregulär auftretende, sondern in einem gewissen Rhythmus erscheinende LH-Peaks beobachteten Butler et al. (1972). Im Blut der A. carotis, das sie viertelstündlich entnahmen, stellten sie bei ovariectomierten Schafen LH-Peaks fest, die sehr regelmäßig in annähernd stündlichen Intervallen auftraten.

2.1.3. Gonadotropinfreisetzung durch Releasinghormone

2.1.3.1. Das synthetische Dekapeptid Gn-RH und seine Spezifität

Nachdem bereits Hohlweg & Junkmann (1932) den Hypothalamus als Zentrum einer übergeordneten nervösen Steuerung der Hypophyse erkannt hatten, war erst mit der Arbeit von McCann et al. (1960) die diesbezügliche Forschung mit Hypothalamusextrakten wesentlich weitergegangen.

Aus über 370.000 Schweinehypothalami isolierten Schally et al. (1971) eine Substanz, die bei Ratten die Freisetzung von LH und FSH stimulierte. Die Aufklärung der Struktur dieser Verbindung gelang noch im selben Jahr (Matsuo et al., 1971 a). Das Molekül des Schweine-Gn-Releasinghormons besteht aus 10 Aminosäuren und hat ein Molekulargewicht von 1181.

Abb. 1 zeigt die genaue chemische Strukturformel. Derselben Forschergruppe gelang es auch, diese Verbindung zu synthetisieren (Matsuo et al., 1971 b). Das synthetische Gn-Releasinghormon liegt als farbloses bis beiges Pulver vor. Es ist nicht hygroskopisch und in physiologischer Kochsalzlösung leicht löslich.

Spezifität des synthetischen Gn-Releasinghormons

Das synthetische Gonadotropinreleasinghormon stimuliert die Abgabe der Gonadotropine LH und FSH aus dem Hypophysenvorderlappen. Andere Hormone des HVL bleiben unbeeinflusst. Bei vielen Labortieren und Haustieren sowie beim Menschen konnte nachgewiesen werden, daß das synthetische Gn-RH nicht artspezifisch wirkt. Es zeigte sich, daß steigende Dosierungen von Gn-RH steigende Mengen von LH freisetzen. Zwischen Gn-RH und FSH besteht teilweise eine solche Dosiswirkungabhängigkeit nicht (Schams et al., 1974).

2.1.3.2. Ansprechbarkeit der Hypophyse auf Gn-RH vor der Pubertät bei verschiedenen Spezies

Bei nicht geschlechtsreifen Tieren und auch bei Kindern, die bisher auf Gn-RH getestet wurden, konnte eine LH-Freisetzung gemessen werden. Dunn et al. (1973) injizierten am 127. und 128. Tag der Trächtigkeit 125 µg Gn-RH in Schafföten und stellten eine LH-Ausschüttung ins Blut der Föten fest. Durch die Injektion von Gn-RH in die Föten wurde nur das fötale Plasma LH erhöht, unberührt blieb das mütterliche LH. Injizierten sie dagegen Gn-RH in den Kreislauf der Mutter, so blieb das fötale LH unbeeinflusst. Durch die Gn-RH-Injektion wurden in den Föten LH-Peaks von $15,4 \pm 1,6$ ng/ml Plasma gemessen, die 90 Minuten nach der Injektion auftraten. Erhöhte LH-Werte wurden über 360 Minuten gemessen.

Eine unterschiedliche Antwort auf Gn-RH bei verschiedenen alten Ratten beobachteten Debeljuk et al. (1972b). Sie behandelten Ratten im Alter von 15, 20, 25, 30, 35, 45, 60 und 210 Tagen mit Gn-RH. Die höchste LH-Freisetzung erfolgte im Alter von 15 und 25 Tagen.

Ellendorf et al. (1973) wiesen nach, daß das Gn-RH auch beim juvenilen Göttinger Minischwein in der Lage ist, LH freizusetzen. Bei 4 fünf Wochen alten Tieren wurden 5 und 10 Minu-

ten nach der Injektion von 0,2 oder 2,0 μ g Gn-RH LH-Peaks gemessen.

Thomas et al. (1972) konnten zeigen, daß Gn-RH auch beim Menschen, vor Eintritt der Pubertät, imstande ist, LH freizusetzen. Sie injizierten 25 μ g Gn-RH intravenös neun Jungen vor der Pubertät. Bei allen trat ein hochsignifikanter Anstieg von LH und FSH im Plasma auf.

2.1.3.3. Ansprechbarkeit der Hypophyse auf Gn-RH bei verschiedenen Zyklusphasen

Arimura et al. (1971) sowie Debeljuk et al. (1972 a) konnten zeigen, daß die Ansprechbarkeit der Hypophyse auf Gn-RH durch Östrogene vergrößert und durch Progesteron oder Progesteron + Östrogene vermindert ist. Da die Sekretion von Ovarsteroiden während des Zyklus wechselt, ist es möglich, daß die Hypophyse unterschiedlich zu verschiedenen Zykluszeitpunkten auf Gn-RH reagiert. Antunes-Rodrigues et al. (1966) untersuchten die Ansprechbarkeit der Hypophyse auf Gn-RH während verschiedener Zyklusphasen bei Ratten. Sie kamen zu dem Ergebnis, daß die Hypophyse zu jedem Zeitpunkt des Zyklus ihre Bereitschaft, LH freizusetzen, behält. Es scheint jedoch möglich zu sein, daß geringe Unterschiede zu verschiedenen Zykluszeiten bestehen. Es besteht die Annahme, daß die Sensibilität der Hypophyse im frühen Proöstrus leicht erhöht sein kann.

Eindeutig konnten Arimura et al. (1972) nachweisen, daß bei Goldhamstern auf Gn-RH eine unterschiedliche LH-Freisetzung während verschiedener Zyklusphasen erfolgt. Im Proöstrus zeigte sich hier die größte LH-Ausschüttung, während am wenigsten am Tag eins des Diöstrus ausgeschüttet wurde. Dasselbe Problem untersuchten beim Schaf Reeves et al. (1971). Am 1. Tag des Brunstzyklus stellten sie die größte Veränderung im Serum LH-Spiegel fest.

Zu dem gleichen Ergebnis der erhöhten LH-Freisetzung während des Proöstrus und bei der Brunst beim Schaf kamen Sandow et al. (1973).

2.1.4. Der "short-loop-feedback"

Von vielen Autoren wird heute die Existenz eines "short-loop-feedback"-Mechanismus, welcher die von den Sexualsteroiden gesteuerte LH-Freisetzung aus der Hypophyse zusätzlich moduliert, als gesichert betrachtet.

Der basale Teil des Hypothalamus, die Eminentia mediana, wird hauptsächlich als der Wirkungsort dieser "short-loop-feedback"-Kontrolle der LH-Sekretion angesehen. In diesem Gehirnbereich, aus dem das LH-Releasinghormon über die Portalgefäße in den HVL gelangt, inhibiert eine bestimmte LH-Konzentration die Ausschüttung des Gn-RH und damit die LH-Freisetzung aus der Hypophyse.

2.1.4.1. Biochemische Mechanismen

Die Implantation kleiner Mengen von LH in die Eminentia mediana von intakten und kastrierten Ratten beiderlei Geschlechts führte zu einer Abnahme des LH-Gehalts in der Hypophyse und im Plasma (Corbin & Cohen, 1966; David et al., 1966; Corbin, 1966; Hirono et al., 1971). Ein zusätzlicher Hinweis auf den inhibierenden Effekt von LH auf sein eigenes Releasinghormon ist die Tatsache, daß im Plasma weiblicher Ratten nach Hypophysektomie Gn-RH erscheint (Nallar & McCann, 1965; Schneider & McCann, 1970), welches nach Elektrokoagulation der Eminentia mediana innerhalb 24 Stunden verschwindet oder durch Gabe von exogenem LH reduziert wird (McCann et al., 1967).

Da es sich erwiesenermaßen bei dem Gn-RH um ein Dekapeptid handelt (Schally et al., 1971), lag die Vermutung nahe, daß

bestimmte proteolytische Enzyme des Hypothalamus bei der Freisetzung oder Inaktivierung dieses Releasing-hormons eine Rolle spielen könnten.

Der Nachweis von Peptidasen im Hirn, die speziell Peptide von begrenzter Größe (Oligopeptide) spalten, gelang bereits verschiedenen Arbeitsgruppen (Ellis & Perry, 1966; Suskiw & Brecher, 1970).

Kuhl et al. (1974) konnten in ihrer Arbeit zeigen, daß es sich bei den Enzymen des Hypothalamus, die bevorzugt Aminoacyl-Arylamide spalten, um Arylamidasen handelt. Die Aktivität dieser Enzyme kann durch Injektion von Hormonen gesteigert werden.

Sie konnten nachweisen, daß Gn-RH während der Inkubation mit dem Überstand von fraktioniertem Hypothalamus-Homogenat inaktiviert wird. In vivo-Experimente mit Ratten zeigten, daß die intravenöse Injektion von 10 ng LH bei reifen männlichen und weiblichen Ratten eine Zunahme der L-Cystin-Arylamidasen-Aktivität im Hypothalamus um ca. 50 % verursacht, während unreife Tiere keine Wirkung zeigten.

Daraus folgerten Kuhl und Mitarbeiter, daß die hypothalamische L-Cystin-Arylamidase am "short-loop-feedback"-Mechanismus von LH beteiligt ist: "Eine Erhöhung des LH-Plasma-Spiegels führt zu einer Aktivierung des Enzyms und dadurch zu einer vermehrten Inaktivierung von Gn-RH im Hypothalamus, was zur Folge hat, daß weniger LH aus dem HVL freigesetzt wird."

2.1.4.2. Konditionierung durch Sexualhormone

Daß der oben beschriebene biochemische Mechanismus des "short-loop-feedback" abhängig ist von dem Vorhandensein von bestimmten Plasma-Konzentrationen von Östrogenen bei weiblichen und Testosteron bei männlichen Tieren, zeigen Versuche von Kuhl et al. (1974). Wurden, wie schon erwähnt, unreife Ratten mit Sexualsteroiden vorbehandelt, so führte die i.v. Injektion von LH zu einem signifikanten Anstieg der hypothalamischen Enzym-Aktivität. Dieser Anstieg blieb ohne Vorbehandlung mit Sexualsteroiden aus. Wurden ovariectomierte Ratten verwendet, so zeigte die i.v. Gabe von LH keine Wirkung auf die Arylamidase, solange die Tiere nicht mit Östrogen/Progesteron vorbehandelt waren.

Auch eine i.v. Injektion von 0,1 µg Östradiol bei weiblichen und von 0,5 µg Testosteron bei männlichen reifen Ratten führte innerhalb 16 Stunden zu einer Steigerung der Enzymaktivität um ca. 50 %.

2.2. Steuerung der Luteolyse im Zyklus

2.2.1. Befunde über vom Uterus ausgehende Wirkung auf die Luteolyse

Die Funktion und die Lebensdauer des Corpus luteums hängen nicht nur von erhaltenden Faktoren ab, vielmehr weisen neuere Experimente darauf hin, daß es aktive Mechanismen gibt, die das Corpus luteum ausschalten, d.h. eine Luteolyse herbeiführen (Short 1967). Bei Versuchen an Meerschweinchen konnte bereits Loeb (1927) zeigen, daß der Uterus für die Lebensdauer des Gelbkörpers eine wichtige Rolle spielt, die Gelbkörperphase wurde durch Hysterektomie verlängert. Daraus wurde geschlossen, daß bei Anwesenheit des Uterus ein aktives

luteolytisches Prinzip wirksam werden kann. Anderson et al. (1969) veröffentlichten eine Zusammenstellung über die funktionellen Beziehungen zwischen Uterus und Corpus luteum bei den einzelnen Spezies. Einige wesentliche Punkte daraus sollen hier kurz wiedergegeben werden:

- a) "Durch eine Hysterektomie kann bei den Spezies Meerschweinchen, Schaf, Rind, Hamster, Ratte und Kaninchen eine Gelbkörperrückbildung stark hinausgezögert werden. Dieser Effekt zeigt sich nicht bei der Frau (s. auch Beling et al., 1970)."
- b) "Die alleinige Zerstörung des Endometriums führt ebenfalls zu einer Verlängerung der Gelbkörperphase."
- c) "Bei der portionsweisen Entfernung des Uterus besteht ein quantitativer Zusammenhang zwischen noch vorhandenem funktionsfähigem Restgewebe und dem Prozeß der Luteolyse. Die Produktionsstätte dieses die Luteolyse auslösenden Faktors wird in den endometralen Drüsen gesehen."

Auch beim Rind hat der Uterus eine zentrale Stellung bei den Vorgängen, die die Luteolyse regulieren. Eine totale Hysterektomie verlängert die Lebensspanne des Gelbkörpers (Wiltbank & Casida, 1956; Anderson et al., 1962; Malven & Hansel, 1964; Henricks et al., 1969).

2.2.2. Prostaglandine und ihr Wirkungsmechanismus als luteolytisch aktive Substanzen

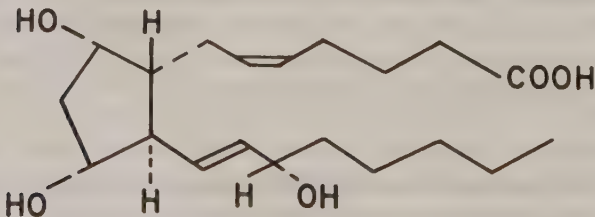
2.2.2.1. Prostaglandine, chemische Struktur, Entdeckung

Die Entdeckung dieser hochaktiven Substanzen geht auf Goldblatt und von Euler zurück, die diese Entdeckung unabhängig voneinander im Jahre 1930 machten.

Sie fanden in menschlicher Samenflüssigkeit eine Substanz, die die Fähigkeit hatte, die glatte Muskulatur zu stimulieren. Erst viel später aber konnte die Struktur des 1. Prostaglandins aufgeklärt werden (Bergström et al., 1962). Ursprünglich wurden die Prostaglandine durch Extraktion von Samenblasendrüsen vom Schaf gewonnen, bis im Jahre 1964 Bergström et al. und van Dorp et al. (1964) die enzymatische Umwandlung von Fettsäurevorgängern in Prostaglandine entdeckten.

Prostaglandine kommen fast in allen Geweben und Körperflüssigkeiten vor, so z.B. in der Lunge und im Gehirn. Die Konzentration dieser Verbindung liegt im Nanogramm-bereich, mit Ausnahme des Samenplasmas, wo bis zu 100 ng/ml erreicht werden.

Bei den natürlich vorkommenden Prostaglandinen handelt es sich um ungesättigte Fettsäuren mit 20 Kohlenstoffatomen. Bis heute wurden 4 Reihen von Prostaglandinen beschrieben und durch die Buchstaben E, F, A und B gekennzeichnet. Diese Buchstaben stehen für bestimmte Ringstrukturen.



Prostaglandin F 2 α

Die Prostaglandine der E- und F-Gruppe sind für die reproduktive Physiologie von besonderem Interesse (Bergström et al., 1962).

In der Abb. 2 wird das Prostaglandin $F_{2\alpha}$ gezeigt.

2.2.2.2. Analytische Werte über Prostaglandine in Bezug auf Zyklus und Gravidität

Lamond et al. (1973) haben mit Hilfe eines Radioimmuno-tests Prostaglandin $F_{2\alpha}$, welches er vorher einer Jersey-kuh in einer Dosis von 20 mg intravenös injizierte (11. Zyklustag), nachweisen können. Diese Verbindung war sehr rasch wieder aus dem Blut verschwunden; 10 Minuten nach der Injektion waren die Werte von 120 ng/ml $PgF_{2\alpha}$, die nach 1 Minute gemessen wurden, wieder auf 0,5 - 2,0 ng/ml Plasma gesunken. Diese niedrigen Werte werden von Lamond et al. (1973) als normal zu diesem Zykluszeitpunkt betrachtet.

Vom $PgF_{2\alpha}$ -Spiegel im Uterusvenenblut von Schafen während des Brunstzyklus berichteten Bland et al. (1971). Die Ergebnisse ihrer Forschungen zeigen, daß $PgF_{2\alpha}$ gegen Ende des Brunstzyklus (Tag 14, 15, 16) im Uterusvenenblut anwesend war. Die Werte lagen in dieser Zeit bei 3,3 bis 8,0 ng $PgF_{2\alpha}$ /ml Plasma, wohingegen zu jedem anderen früheren Zykluszeitpunkt kein $PgF_{2\alpha}$ auffindbar war. Darüber hinaus war im Jugularvenenblut eines Schafes am 15. Tag, während im Uterusvenenblut 3,3 ng $PgF_{2\alpha}$ /ml Plasma enthalten war, kein $PgF_{2\alpha}$ auffindbar.

Über die Konzentration von $PgF_{2\alpha}$ im Uterus-Ovarvenenblut während eines Brunstzyklus berichteten auch Thorburn et al. (1972). Die Konzentrationen von $PgF_{2\alpha}$ wurden mit Hilfe eines Radioimmunotests gemessen. Alle 2 - 3 Stunden wurde Blut mit Hilfe von Kathetern gewonnen, die am Tag 10 oder 11 nach dem letzten Östrus in die linke oder rechte Uterus-

Ovarvene eingesetzt wurden. Bei dieser Entnahmefrequenz zeigte sich eine Serie von Gipfelwerten von $\text{PgF}_{2\alpha}$ zwischen den Tagen 13 und 17 des Brunstzyklus. Diese Peaks waren von kurzer Dauer und nahmen an Häufigkeit zu, je näher der erwartete Brunstzeitpunkt kam. Sehr niedrige Konzentrationen jedoch wurden zu jedem anderen Zykluszeitpunkt gemessen. Bei trächtigen Schafen konnten keine $\text{PgF}_{2\alpha}$ -Peaks während der Tage 13 - 17 gemessen werden.

Bei der Kuh gibt es bis heute keine analytischen Daten über Prostaglandine, weder im Endometrium noch im Uterusvenenblut.

Hansel et al. (1972) haben berichtet, daß die aktiv luteolytische Fraktion, die sie aus Extrakten von Rinderuteri gewonnen haben, kein Prostaglandin enthält; es könnte sich aber um eine ungesättigte Fettsäure handeln. Da das Ovar von Kaninchen und Ratten Prostaglandine synthetisieren kann (Wilks et al., 1972; Chasalow & Pharris, 1972), wäre denkbar, daß das Endometrium von Rindern nur den Vorläufer produziert, der dann im Ovar zu der aktiven Form umgewandelt wird (Inskeep, 1973).

2.2.2.3. Funktionelle Hypothesen zur Prostaglandinwirkung als Luteolysin

Pharris & Wyngarden (1969) waren die ersten, denen es gelang, die luteolytische Fähigkeit von Prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$ bei scheinträchtigen Ratten an Hand des Abfalles des Progesterons nachzuweisen. Später wurde gezeigt, daß auch PgF_1 und PGE_1 bei einer Vielzahl von Labortieren und Haustieren die Luteolyse einzuleiten imstande sind.

McCracken et al. (1970) sowie Goding et al. (1971) verpflanzten bei Schafen ein Ovar an den Hals und versorgten es mit arteriellem Blut aus der A. carotis. Infundierten sie nun $PgF_{2\alpha}$ in diese den Eierstock versorgende Arterie, so erhielten sie einen signifikanten Abfall im Progesteron-Spiegel und sie beobachteten Brunstsymptome. Ebenso wurde dadurch ein neuer Zyklus ausgelöst.

Es wurde festgestellt, daß ziemlich hohe Dosen von $PgF_{2\alpha}$ im Blut der Uterus-Ovarvene sowohl unter physiologischen als auch unter experimentellen Bedingungen mit der lutealen Regression verknüpft sind (Poyser et al., 1970; Blachley et al., 1971; Bland et al., 1971; Horton et al., 1971; McCracken, 1972). Dies deutet darauf hin, daß das Prostaglandin vom Uterus sezerniert wird und am entsprechenden Ovar wirksam wird.

Die rasche Inaktivierung des zirkulierenden Prostaglandins deutet auf einen lokalen Übertragungsmechanismus vom Uterus zum entsprechenden Ovar hin. So bleibt die Frage, auf welche Weise das im Uterus gebildete Prostaglandin von der Uterus-Ovarvene in die Ovararterie gelangt, ohne den Kreislauf zu passieren. Da eine sehr enge anatomische Verknüpfung zwischen den beiden Blutgefäßen besteht, halten es einige Autoren für möglich, daß dies durch eine Art Gegenstromprinzip geschieht (McCracken, 1971; Goding et al., 1971). Hinzu kommt, daß die Ovarvene einen sehr stark gewundenen Verlauf nimmt, ehe sie in das Ovar gelangt. Siehe dazu Abb. 3.

Barrett et al. (1971) konnten durch chirurgische Trennung der beiden Gefäße zeigen, daß eine luteale Regression bei allen Schafen, in welchen die vollständige Trennung gelang,

ausblieb. Weitere Unterstützung erhielt die "counter-current-Theorie" durch Versuche von McCracken (1971). Radioaktiv markiertes $\text{PgF}_{2\alpha}$ wurde in die Uterusvene von Schafen infundiert und die Radioaktivität im Ovararterienblut gemessen. Blutproben aus der Ovararterie enthielten eine signifikant höhere Radioaktivität als Blut im übrigen arteriellen Kreislauf.

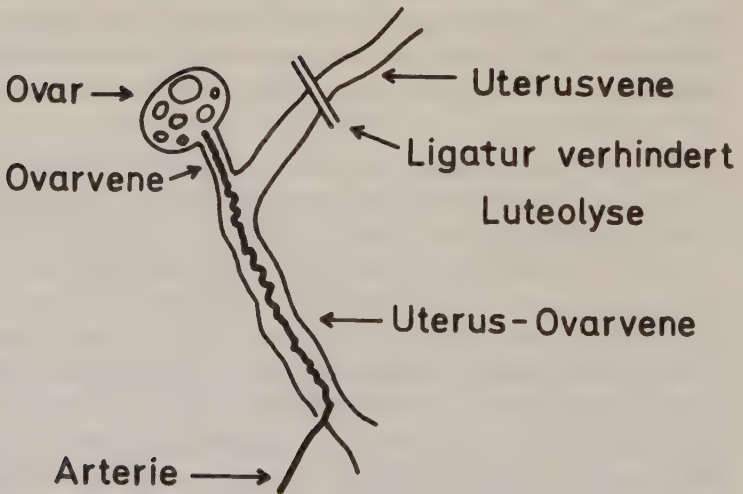


Abb. 3 Schematische Darstellung der Gefäßversorgung des Ovars und des Gegenstromprinzips

Untersuchungen über Verbindungen von Uterusovarvene und Ovararterie wurden kürzlich von Coudert et al. (1974 a) durchgeführt. Dabei benützten sie ein hochdiffusionsfähiges Gas (^{133}Xe) und radiojodiertes menschliches Serumalbumin ($^{131}\text{RISA}$), welches sie in die Uterus-Ovarvene injizierten. Das markierte RISA wanderte dabei nie in die Ovararterie, was gegen eine direkte Verbindung der Gefäße spricht. Das sehr diffusionsfähige Xe^{133} jedoch erschien nach 20 Sekunden in der Ovararterie; dies spricht für passive Diffusion.

Von diesen Autoren stammen auch die anatomischen Ausgüsse, die von den beiden Gefäßsystemen mit Hilfe von verschiedenen gefärbten Latex-Injektionen gemacht wurden. In den Schnitten konnte keine direkte Verbindung zwischen venösen und arteriellen Gefäßen gefunden werden.

Im Gegensatz zu den zitierten Auffassungen von McCracken steht eine weitere neueste Veröffentlichung von Coudert et al. (1974 b). Sie injizierten Tritium markiertes $\text{PgF}_{2\alpha}$ in die V. anterior uterina von Schafen, entweder als einmalige Injektion oder als eine 40 bis 60 Minuten dauernde Infusion. Sie kamen bei diesen Versuchen zu dem Ergebnis, daß weder die einmalige Injektion noch die Infusion von markiertem $\text{PgF}_{2\alpha}$ zu einer Erhöhung der Radioaktivität in der Ovararterie führte. Daraus schlossen die Autoren, daß es zwischen der Uterus-Ovarvene und der Ovararterie weder zu einer Diffusion, Filtration oder zu einem "counter-current"-Austausch noch zu einem aktiven Transport kommt. Sie stellen deshalb eine direkte oder lokale luteolytische Aktion von $\text{PgF}_{2\alpha}$ in Frage.

Durch die erwiesene Fähigkeit der Prostaglandine, Gefäße zu kontrahieren, ist es möglich, daß der Blutfluß in der Uterusovarvene oder der Ovararterie herabgesetzt wird (Pharris, 1971).

Ein anderer möglicher Mechanismus könnte auch darin bestehen, daß die Blutzirkulation innerhalb des Ovars geändert wird und so die Versorgung speziell des Gelbkörpergewebes nicht mehr gewährleistet wird.

Eine direkte Prostaglandinwirkung auf die intrazellulären lutealen Enzyme oder auf die Zellmembran (Gonadotrope Hormonrezeptoren) wurde ebenfalls als ein möglicher Mechanismus betrachtet.

2.2.3. Bisherige Versuche zur Zyklussteuerung mit Hilfe von Prostaglandin $F_{2\alpha}$ und analoge Verbindungen bei verschiedenen Spezies

Verschiedene Autoren berichten von Versuchen mit $PgF_{2\alpha}$ an Haustieren, in denen es gelang, Östruserscheinungen während des Zyklus auszulösen. Wichtig erscheint hierbei der Behandlungstag, die Dosierung und die Injektionsart zu sein.

Chamley et al. (1972) untersuchten die luteolytische Fähigkeit des $PgF_{2\alpha}$ bei Schafen, denen das linke Ovar an den Hals transplantiert worden war, während das rechte Ovar vollständig entfernt wurde.

2 Gruppen wurden untersucht:

- a) 3 Tiere bekamen $40 \mu g$ $PgF_{2\alpha}$ pro Stunde, 4 Stunden lang infundiert.
3 Tiere bekamen $10 \mu g$ $PgF_{2\alpha}$ pro Stunde, 7 Stunden lang infundiert.
- b) 4 Tiere bekamen $2 \mu g$ $PgF_{2\alpha}$ pro Stunde, 9,5 - 18 Stunden lang infundiert.

Ergebnisse:

Alle Tiere der Gruppe a) zeigten Östruserscheinungen 42 - 66 Stunden nach Beginn der Infusion. Ebenso kam es zu einem steilen Abfall der Progesteronsekretion und ein typischer präovulatorischer LH-Peak wurde 52 - 66 Stunden nach der Infusion gemessen.

Bei den Tieren der Gruppe b) fielen die Progesteronwerte allmählich ab und nur ein Tier zeigte Östruserscheinungen.

Luis et al. (1973) injizierte

- a) 5 Kalbinnen im Diöstrus (8. - 14. Tag nach der letzten Brunst) 30 mg $\text{PgF}_{2\alpha}$ intramuskulär,
- b) 6 Kalbinnen während des Metöstrus (3. Tag nach der Brunst) ebenfalls 30 mg $\text{PgF}_{2\alpha}$ i.m., und schließlich
- c) 30 mg $\text{PgF}_{2\alpha}$ intravaginal während des Diöstrus (10. - 14. Tag nach der Brunst) nahe der Zervix.

Die Ovarien wurden rektal kontrolliert, Progesteron und LH wurden ebenfalls bestimmt. Sie erzielten dabei folgende Ergebnisse:

- zu a) Der Gelbkörperdurchmesser fiel von $2,3 \pm 0,1$ cm auf $0,6 \pm 0,3$ innerhalb 72 Stunden ab, das Progesteron im Blutserum fiel von $4,0 \pm$ ng/ml auf $1,0 \pm 0,2$ ng/ml nach 72 Stunden ab.
Die Brunst begann 74 ± 3 Stunden, die Ovulation trat nach 104 ± 6 Stunden auf.
- zu b) Hier war die intramuskuläre Injektion von 30 mg $\text{PgF}_{2\alpha}$ weder luteolytisch noch luteostatisch wirksam.
- zu c) Nach der intravaginalen Injektion von 30 mg $\text{PgF}_{2\alpha}$ während des Diöstrus reagierte von den 6 Tieren eines nicht, die übrigen 5 reagierten ähnlich wie die intramuskulär behandelten, nur war die Luteolyse etwas gestreuter und um 1 - 2 Tage verlängert.

In einem ähnlichen Versuch der gleichen Arbeitsgruppe (Stellflug et al., 1973) mit Kalbinnen wurden diese Ergebnisse bestätigt. Hier wurden 3 Gruppen von jeweils 11 Kalbinnen gebildet:

- a) 30 mg $\text{PgF}_{2\alpha}$ intramuskulär
- b) 2 x 15 mg $\text{PgF}_{2\alpha}$ intramuskulär, in sechsstündigem Abstand
- c) 60 mg $\text{PgF}_{2\alpha}$ intramuskulär

Dabei wurden folgende Ergebnisse erzielt:

- zu a) Brunstbeginn nach 55 ± 2 Stunden, LH-Peak nach 66 Stunden, Ovulation nach 89 ± 4 Stunden,
- zu b) Brunstbeginn nach 60 ± 4 Stunden, LH-Peak nach 65 ± 3 Stunden, Ovulation nach 90 ± 4 Stunden,
- zu c) Brunstbeginn nach 50 ± 3 Stunden, LH-Peak nach 57 ± 3 Stunden, Ovulation nach 78 ± 3 Stunden.

Der Abfall des Progesterons unterschied sich bei diesen 3 Behandlungsarten nicht signifikant, die Intervalle zwischen Injektion und Beginn der Brunst, präovulatorischem LH-Peak und Ovulation waren nach 60 mg $\text{PgF}_{2\alpha}$ kleiner als nach 30 mg $\text{PgF}_{2\alpha}$ oder 2 x 15 mg $\text{PgF}_{2\alpha}$.

So konnte festgestellt werden, daß, obwohl die größere Dosis die Luteolyse nicht beschleunigte, die Intervalle zwischen Injektion einerseits und Brunstbeginn, LH-Peak und Ovulation andererseits nach 60 mg $\text{PgF}_{2\alpha}$ kleiner waren.

In allerletzter Zeit wurden auch Versuche zur Brunst- und Ovulationsauslösung mit Prostaglandinanalogen durchgeführt.

Allen & Rowson (1973) beschreiben die hohe luteolytische Fähigkeit von einem $\text{PgF}_{2\alpha}$ -Analog mit der Code-Bezeichnung "ICI 79939". Sie behandelten Ponystuten damit und gingen dabei wie folgt vor:

14 Ponystuten wurden in insgesamt 40 Zyklen zu verschiedenen Zeitpunkten des Diöstrus zum Teil intrauterin, zum Teil intramuskulär an 2 aufeinanderfolgenden Tagen behandelt. Die i.u. Dosis betrug 100-200 μg ICI-Analog, die i.m. Dosis betrug 300-600 μg des Präparats. Alle Tiere wurden täglich mit einem Hengst auf Anzeichen der Rosse geprüft und die Ovarien wurden regelmäßig rektal auf Follikelanbildung oder Ovulation untersucht. Alle Tiere, die zweimal mit 100 μg - 600 μg ICI-Analog am oder nach dem 4. Tag des Diöstrus behandelt wurden, kamen innerhalb von 4 Tagen nach dem ersten Behandlungstag in Östrus, unabhängig von der Behandlungsdosis und der Behandlungsart (i.u. oder i.m.).

Von den Tieren jedoch, die am 3. oder 4. Tag des Diöstrus behandelt wurden, kamen von 5 nur 3 innerhalb von 4 Tagen in Rosse, und alle 4 Stuten, die am 2. oder 3. Tag des Diöstrus behandelt wurden, zeigten keine Reaktion. Alle Tiere, die, wie oben beschrieben, in Östrus kamen, ovulierten normal.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, daß dieses Prostaglandin-analog bei der Stute hoch luteolytisch wirksam ist, wenn es zwischen dem 4. und 13. Tag des Diöstrus gegeben wird.

Diese Ergebnisse sind denen, die Rowson et al. (1972) bei Rindern mit $\text{PgF}_{2\alpha}$ erzielte, sehr ähnlich. Diese Autoren behandelten Rinder intrauterin an zwei aufeinanderfolgenden Tagen mit jeweils 0,5 mg $\text{PgF}_{2\alpha}$. Erfolgte die Behandlung zwischen dem 5. und 16. Tag des Zyklus, so kamen die meisten Rinder 3 Tage später in die Brunst. Erfolglos dagegen blieb die Behandlung zwischen dem 1. und 4. Tag des Brunstzyklus.

Beim Rind wurde die Wirksamkeit von dem $\text{PgF}_{2\alpha}$ -Analog ICI 79939 von Tervit et al. (1973) untersucht. Insgesamt 251 Kalbinnen wurden zwischen dem 5. und 16. Zyklustag behandelt. Die Tiere wurden als Empfänger oder Spender

für Eitransplantationsversuche benutzt. Die Spendertiere wurden einen oder zwei Tage vor der Verabreichung von $\text{PgF}_{2\alpha}$ -Analog mit 2000 i.u. PMSG behandelt. Eine intra-uterine Behandlung mit 300 μg Analog pro Tag, an zwei aufeinanderfolgenden Tagen, erbrachte eine genaue Synchronisation der Brunst. Da sie diese Dosis für zu hoch erachteten, verringerten sie sie auf 200 $\mu\text{g}/\text{Tag}$. Auch hierbei erreichten sie eine genaue Synchronisation der Brunst, ob die Tiere nun mit PMSG vorbehandelt waren oder nicht. Anders verhielt es sich, als das Analog intramuskulär verabreicht wurde. Hier erzielten sie teilweise keine genügende Synchronisation. Dabei wurden entweder 600 μg oder 800 μg Analog als einfache i.m. Injektion gegeben oder, nach Vorbehandlung mit PMSG, wiederum an zwei aufeinanderfolgenden Tagen (600 μg am 1. Tag, 200 μg am 2. Tag). Als sie die Gesamtdosis auf 950 μg oder 1000 μg steigerten (750 oder 800 μg am 1. Tag, 200 μg am 2. Tag), gab es eine zufriedenstellende Synchronisation auch nur, wenn die Tiere mit PMSG vorbehandelt waren.

Von besonderem Interesse ist natürlich, ob eine Trächtigkeit nach einer Prostaglandinbehandlung zustande kommen kann.

Lauderdale et al. (1973) haben dies bei Rindern untersucht. Dabei besamten sie eine Gruppe von Rindern 12 Stunden nach Beginn der Brunst, die durch $\text{PgF}_{2\alpha}$ ausgelöst wurde.

Eine andere Gruppe wurde ohne Rücksicht auf Brunst 72 - 96 Stunden nach der Injektion von $\text{PgF}_{2\alpha}$ besamt. Dabei stellten sie fest, daß die Fruchtbarkeit bei diesen Rindern vergleichbar zu einer unbehandelten Kontrollgruppe war.

3. Methodischer Teil

3.1. Tiermaterial

Die Tierversuche wurden auf der Versuchsstation Veitshof der Süddeutschen Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft Weißenstephan der Technischen Universität München durchgeführt. Es standen insgesamt 6 weibliche und 6 männliche Kälber, 9 Kalbinnen sowie 10 Kühe und 1 Bulle zur Verfügung. In der Tabelle 2 sind die Bezeichnung, das Alter und die Rasse der verwendeten Tiere aufgeführt.

3.2. Blutentnahmetechnik

Die Blutentnahme erfolgte mit Hilfe eines Plastikkatheters, der in der Regel am Tag vor dem Versuch in die Vena jugularis eingelegt wurde, so daß am Versuchstag selbst in beliebigen Zeitabständen Blut entnommen werden konnte. Mit Hilfe einer Heparinlösung (Liquemin, Heparinpräparat der Fa. Hoffmann-La Roche) konnte die Blutgerinnung im Katheter verhindert werden. Nach der i.v. oder i.m. Applikation des synthetischen Releasinghormons erfolgten die Blutentnahmen in den ersten 2 Stunden in der Regel in 15-Minuten-Intervallen, anschließend halbstündlich und stündlich. Nach der Applikation von Prostaglandin $F_{2\alpha}$ oder Prostaglandinanalogen wurde in den ersten 2 - 3 Stunden viertelstündlich Blut entnommen, anschließend bis zum Auftreten der Brunst in 6-stündlichen Intervallen. Die Blutproben wurden in Zentrifugenröhrchen, die 0,1 ml einer Heparinlösung enthielten, gesammelt, gekühlt, abzentrifugiert und bei -18° Celsius bis zum Test aufbewahrt.

Tabelle 2

Tiermaterial

Tier	Alter bei Versuchsbeginn	Rasse
<u>Männliche Kälber:</u>		
Gilch	30 Tage	B
Gerd	19 "	"
Zar	56 "	"
Kaiser	28 "	"
Gimpel	28 "	"
Kaspar	28 "	"
<u>Weibliche Kälber:</u>		
Klara	78 "	"
Kleva	11 "	"
Nora	10 "	"
Carola	15 "	"
Isa	28 "	"
Zitta	5 Monate	"
<u>Kalbinnen:</u>		
Rita	1 1/2 Jahre	"
Helga	1 1/2 "	"
Flora	2 "	"
Bella	2 "	"
Gilla	2 "	"
Edda	1 1/2 "	"
Ciba	1 1/2 "	"
Deda	1 1/2 "	"
Aida	2 "	"
<u>Kühe:</u>		
Zilla	3 1/2 "	H
Wanda	3 1/2 "	"
Sepia	3 1/2 "	"
Xanta	3 1/2 "	"
Uta	3 1/2 "	"
Peppa	3 1/2 "	"
Ypsilon	3 1/2 "	"
Rosa	3 1/2 "	"
Tina	3 1/2 "	"
Vroni	3 1/2 "	"
<u>Bulle:</u>		
Kaliro	3 1/2 "	B

B = Braunvieh

H = Höhenfleckvieh

Bei den Prostaglandinversuchen war es notwendig, Blutproben in täglichem Abstand mehrere Wochen zu entnehmen. Diese Proben wurden durch Punktion der Vena jugularis mit Hilfe kleiner Kanülen gewonnen.

3.3. Rektale Untersuchung

Die Veränderungen an den Ovarien und am Uterus wurden durch rektale Palpation festgestellt.

Am Versuchstag wurde im Abstand von 2 - 3 Stunden rektal untersucht. In den darauffolgenden Tagen wurde morgens, mittags und abends eine rektale Untersuchung vorgenommen. Bei den Versuchen zur Zyklussynchronisation war es notwendig, die Ovarien und den Uterus mehrere Wochen lang zu kontrollieren. Bei diesen Versuchen wurden die Tiere 3 Mal in der Woche untersucht.

Die Trächtigkeitsfeststellung bei den Versuchen zur Zyklussynchronisation mit anschließender Besamung wurde 6 - 8 Wochen nach der Insemination durchgeführt.

3.4. Elektrische Widerstandsmessung des Vaginalschleims

Der elektrische Widerstand des Vaginalschleims wurde mit Hilfe eines Ohmmeters gemessen (Metzger et al., 1972). *) Das Ohmmeter wird an eine Batterie angeschlossen. Als Elektroden sind in die Spitze eines Kunststoffstabes (Durchmesser: 1,5 cm) 2 Goldringe im Abstand von 0,5 cm eingearbeitet. Gemessen wird der zwischen den 2 Ringen fließende Strom.

*) Wir verdanken das Meßgerät der Zusammenarbeit mit den Herren Professor Leidl und Dr. Metzger von der Gynäkologischen Tierklinik der Universität München

Nach Spreizen der Schamlippen wird der Elektrodenstab in die Scheide eingeführt und bis zur Portio vaginalis vorgeschoben. Im ventral gelegenen Schleimsee am Orificium externum wird der Stab einige Male hin und her bewegt, so daß sich zwischen beiden Elektroden mehr Schleim ansammeln kann. Nach einer Verweildauer von 30 Sekunden wird der Meßwert (in Ohm) abgelesen.

Nach jedem Gebrauch wurde der Elektrodenstab mit einem Desinfektionsmittel gereinigt.

Die Messungen wurden parallel zu den rektalen Untersuchungen vorgenommen.

3.5. Radioimmunologische Bestimmungsmethode für LH

Das LH im Plasma wurde nach dem von Schams & Karg (1969 a) beschriebenen Arbeitsverfahren bestimmt. Das derzeit eingerichtete Verfahren ist wie folgt verbessert:

Die Gesamtaktivität der Proben wurde nur stichprobenartig gemessen. Dies ermöglichte eine präzise, maschinelle Pipettiertechnik. Die Trennung des markierten, freien LH von dem komplexgebundenen, markierten LH erfolgte durch Zentrifugation. Dabei wurden dem Inkubationsvolumen der Proben 2 ml Rinderserum (mit 0,05 molarem Phosphatpuffer pH 7,5 1 : 14 verdünnt) zugegeben. Anschließend wurden die Proben 30 Minuten lang bei 3000 U/Min. zentrifugiert. Nach vorsichtigem Abkippen des Überstandes blieb der Komplex (Antikörper plus markiertes Hormon) als Präzipitat zurück. Dessen Radioaktivität wurde im Szintillationszähler gemessen. Die Ausgabe der Werte erfolgte, zusätzlich zum Ausdruck, über Lochstreifen.

Durch die parallel angesetzten Standardwerte wurde mittels eines Kleincomputers (Fa. Wang) eine entsprechende Eichkurve

ermittelt. Die Konzentration des LH (in ng/ml Plasma) wurde durch die auf Lochstreifen gespeicherten Impulszahlen vom Computer errechnet. Somit kann der durch Ungenauigkeit beim Ablesen der Eichkurve entstehende Fehler ausgeschlossen werden.

Bezüglich der Genauigkeit des Tests war folgendes zu beachten:

Für die Versuche zu den episodischen LH-Schwankungen taucht die Frage nach der Reproduzierbarkeit von Werten auf, die im unteren Basisspiegelbereich liegen. Allgemein muß mit einer Testungenauigkeit von $\pm 5\%$ gerechnet werden. Da aber bei den niedrigen Werten unter 1,5 ng/ml Plasma die Ungenauigkeit meist 20 % übersteigt, wurden diese Werte als nur bedingt reproduzierbar angesehen und in den entsprechenden Abbildungen besonders dargestellt.

3.6. Bestimmung von Progesteron

Die Progesteronbestimmung wurde radioimmunologisch im Steroidlabor des Instituts von Herrn Priv.Do.

Dr. B. Hoffmann im Rahmen einer Teamarbeit durchgeführt. Über methodische Details siehe Hoffmann (1972 a,b) und Ender (1974).

3.7. Präparate Gn-RH, Prostaglandin $F_{2\alpha}$, Prostaglandin-Analog ICI 80996

Das synthetische Gn-RH (LRH-Hoe 471) wurde von den Farbwerken Hoechst AG, Frankfurt, *) zur Verfügung gestellt.

*) Für die Bereitstellung des genannten Präparats sind wir der Firma zu Dank verpflichtet.

Das Gn-RH wurde vor der Applikation mit 0,9 % NaCl gelöst.

Das Prostaglandin $F_{2\alpha}$ wurde von Synthex Research, Palo Alto, California/USA, zur Verfügung gestellt. *)

Das $PgF_{2\alpha}$ wurde mit Alkohol gelöst und mit 0,9 % NaCl verdünnt (20 mg $PgF_{2\alpha}$ + 0,5 ml Alkohol, verdünnt mit 0,9 % NaCl auf 35 ml). Diese Lösung wurde in ca. 30 Sekunden i.v. injiziert.

Das Prostaglandinanalogs ICI 80996 wurde uns von den Imperial Industries Ltd., Maxlesfield-Cheshire/England überlassen. *)

Das $PgF_{2\alpha}$ -Analog ICI 80996 wurde mit 0,1 molarem Phosphatpuffer (pH 7,4) gelöst (10 mg/ml) und vor Gebrauch mit 2 ml 0,9 % NaCl verdünnt. Die Stammlösung wurde bei $+4^{\circ}$ Celsius aufbewahrt.

*) Für die Bereitstellung der oben genannten Präparate sind wir den einzelnen Firmen zu Dank verpflichtet.

4. Ergebnisse

4.1. Normalwerte und Schwankungen von Luteinisierungshormon im Rinderblut

Bei den in diesem Kapitel beschriebenen Ergebnissen handelt es sich um Versuche zur Ermittlung von Schwankungen des normalen LH-Basispiegels. Da es sich hierbei um Werte im unteren Nanogrammbereich handelt, ist das im methodischen Teil Erwähnte zu berücksichtigen. Es sind deshalb die Werte unter 1,5 ng/ml Plasma in den Abbildungen besonders gekennzeichnet (Schraffierung).

4.1.1. Versuche bei juvenilen Tieren

4.1.1.1. Männliche Tiere

Aus Abb. 4 sind die viertelstündlichen Plasma-LH-Veränderungen bei männlichen Kälbern im Alter von 4 Wochen, 8 Wochen, 20 Wochen und 40 Wochen ersichtlich. Es wurde jeweils 8 Stunden lang, zwischen 8 und 16 Uhr, Blut entnommen. In der Altersgruppe 4 Wochen wird der höchste LH-Gipfelwert gemessen. Er erreicht hier 6 bzw. 6,5 ng LH/ml Plasma. Im Falle des Kalbes Kaspar treten sogar 2 solche Gipfelwerte innerhalb von 2 Stunden auf. Ebenso läßt sich feststellen, daß in dieser Altersgruppe die deutlichsten Schwankungen im LH-Spiegel gemessen wurden.

Wesentlich ruhiger ist der Verlauf der LH-Kurve bei 8 Wochen alten männlichen Kälbern, obwohl auch hier eine LH-Erhöhung bis zu 4,4 ng LH/ml Plasma während der 8 Stunden dauernden Entnahmezeit gemessen wurde. Der LH-Spiegel bewegt sich dabei zwischen 1,5 und 2,0 ng/ml Plasma.

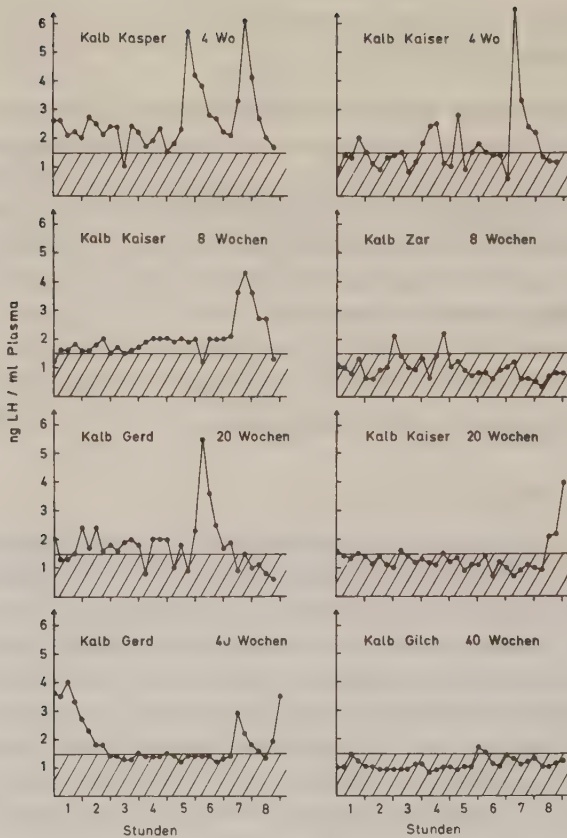


Abb. 4 Die LH-Konzentrationen bei männlichen Kälbern verschiedenen Alters nach Blutentnahme in viertelstündlichem Abstand

Auch bei den Kälbern im Alter von 20 Wochen konnte während 8 Stunden Entnahmezeit jeweils eine LH-Erhöhung gemessen werden. Im Falle des Kalbes Gerd eine Erhöhung bis zu 5,5 ng, beim Kalb Kaiser eine Erhöhung bis zu 4,0 ng LH/ml Plasma.

Die beiden Kurven der Tiere Gerd und Gilch (40 Wochen) sind uneinheitlich.

Beim Kalb Gilch zeigt sich eine nahezu gleichmäßig verlaufende LH-Kurve mit Basiswerten um 1,0 ng LH/ml Plasma, während die LH-Kurve des Kalbes Gerd bei Basiswerten um 1,5 ng drei merkliche LH-Erhöhungen bis zu 4 ng LH/ml Plasma erreicht.

4.1.1.2. Weibliche Tiere

Weiblichen Kälbern wurde gruppenweise nach Alter von 4 Wochen, 8 Wochen, 20 Wochen bzw. 40 Wochen Blut in viertelstündlichen Intervallen 8 Stunden lang zwischen 8 und 16 Uhr entnommen. In der Abb. 5 sind die LH-Werte in den verschiedenen Altersgruppen zur Übersicht gebracht. Es ist daraus zu ersehen, daß die LH-Sekretion merklichen Schwankungen unterworfen ist. Ein Zusammenhang zum Alter der Tiere oder zur Tageszeit scheint nicht zu bestehen.

Zu einer merklichen Erhöhung der LH-Werte kommt es beim Kalb Nora (4 Wochen alt) nach 3 Stunden. Es wird dabei ein Gipfelwert von 6,5 ng LH/ml Plasma erreicht. Der durchschnittliche LH-Spiegel liegt bei 1 ng/ml Plasma, ebenso wie beim Kalb Isa, wobei allerdings im letzteren Fall ein merklicher Anstieg während der Entnahmezeit fehlt.

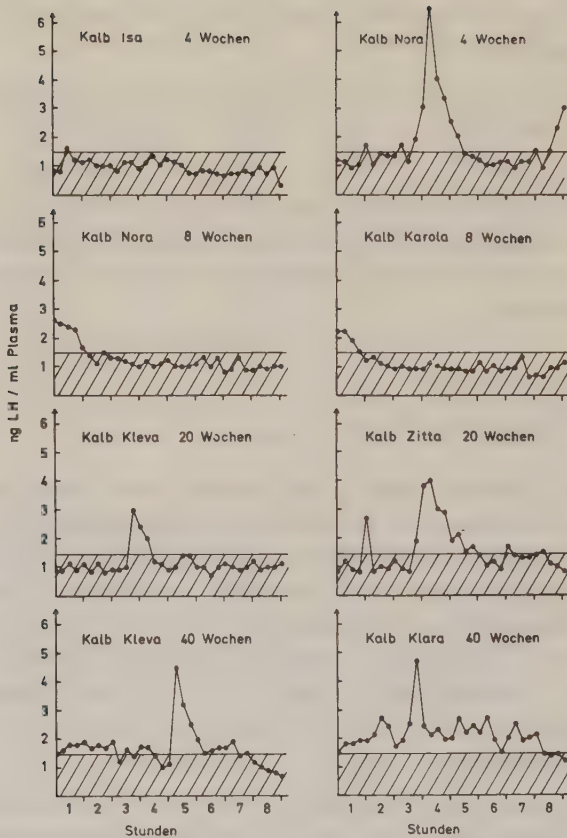


Abb. 5 Die LH-Konzentrationen bei weiblichen Kälbern verschiedenen Alters nach Blutentnahme in viertelstündlichem Abstand

In der Altersgruppe 8 Wochen zeigt sich ein ziemlich gleichmäßiger Verlauf der LH-Kurve, wobei die Werte leicht um 1 ng LH/ml Plasma schwanken. Zu Beginn des Versuches liegen die Werte bei beiden Tieren etwas höher, bei einem Tier (Nora) fallen die Werte von ca. 2,5 ng innerhalb 1 1/2 Stunden, beim Kalb Karola von 2,2 ng innerhalb 1 Stunde auf Werte um 1,0 ng LH/ml Plasma.

Ähnlich wie in der Altersgruppe von 4 Wochen sind die Ergebnisse in der Altersgruppe 20 Wochen und 40 Wochen. Hier werden LH-Gipfelwerte von 4 - 5 ng LH/ml Plasma erreicht, der Basisspiegel in der Altersgruppe 40 Wochen liegt jedoch, insbesondere beim Kalb Klara, deutlich über 1,5 ng.

Plasmaspiegel von LH bei weiblichen Kälbern im Zeitraum von der 8. - 12. Lebenswoche

Zwei weiblichen Kälbern wurde 14 Tage lang dreimal täglich Blut in dem oben angegebenen Zeitraum entnommen. Während der letzten drei Versuchstage wurde in 6-stündlichen Intervallen Blut entnommen. Aus Abb. 6 sind die Ergebnisse zu ersehen:

Beim Kalb Karola zeigen sich insgesamt 5 LH-Erhöhungen, die über 1,5 ng liegen. Der höchste Wert liegt bei 4,2 ng. Beim Kalb Nora sind insgesamt 9 solche LH-Anstiege zu erkennen, wobei der höchste 3,5 ng LH/ml Plasma erreicht.

Plasmaspiegel von LH bei weiblichen Kälbern im Zeitraum von der 35. - 40. Lebenswoche

Um die Plasma-LH-Werte in diesem Zeitraum zu erhalten, wurde 2 weiblichen Kälbern 14 Tage lang in 6-stündlichen Abständen Blut entnommen. In der Abb. 7 sind die Änderungen

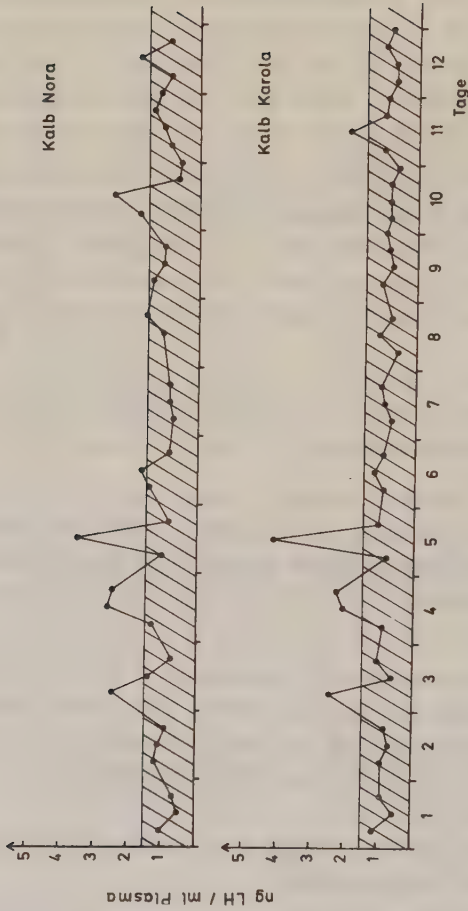


Abb. 6 LH-Spiegel im Plasma bei weiblichen Kälbern in der 8. und 9. Lebenswoche bei 3 - 4 Entnahmen pro Tag

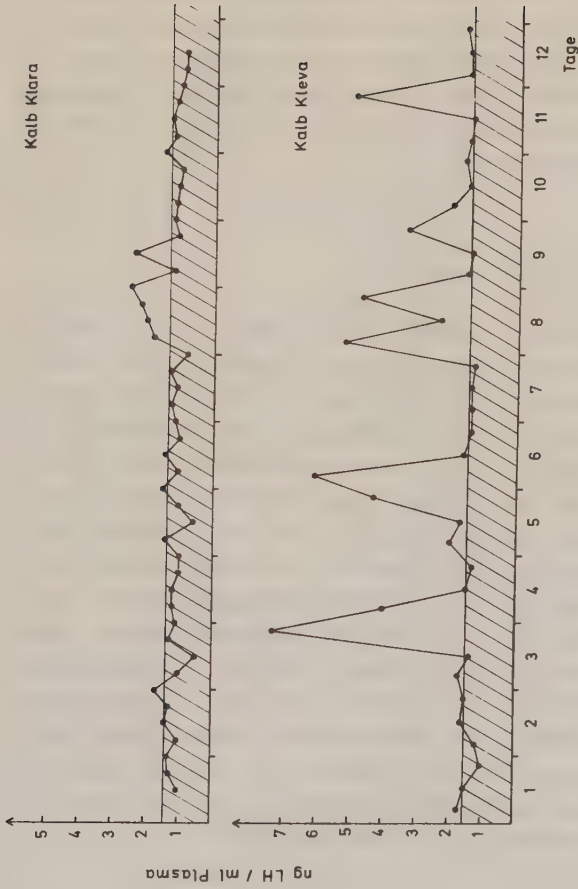


Abb. 7 LH-Spiegel im Plasma bei weiblichen Kälbern in der 35. und 36. Lebenswoche bei 3 bzw. 4 Entnahmen pro Tag

in der LH-Konzentration wiedergegeben. Zwei sehr unterschiedliche LH-Kurven konnten dabei erhalten werden. Die Werte schwanken zwischen minimal 0,5 und maximal 2,5 ng LH/ml Plasma beim Kalb Klara. Ganz anders dagegen beim Kalb Kleva, wo sich in dem Blutentnahmezeitraum 6 beträchtliche LH-Erhöhungen zeigen. Die höchste beträgt 7,3 ng, die geringste noch 3,3 ng LH/ml Plasma. Zwischen diesen Erhöhungen ist ein Basisspiegel erkennbar, der bei 1,5 ng LH/ml Plasma liegt.

4.1.1.3. Kastrationsversuch

Einem männlichen Kalb im Alter von 4 Wochen wurde über einen Zeitraum von 8 Stunden viertelstündlich Blut entnommen. Am folgenden Tag wurde das Tier kastriert. Nach einem Zeitraum von 3 Wochen wurde dem Tier wiederum 8 Stunden lang Blut in den oben angegebenen Intervallen entnommen. In der Abb. 8 sind die LH-Werte dieser beiden Versuche vergleichend dargestellt. Es ist zu sehen, daß die Orchidektomie einen Einfluß auf den durchschnittlichen LH-Basisspiegel hatte. Der LH-Spiegel betrug vor der Orchidektomie 1,1 ng/ml Plasma im Durchschnitt, nach erfolgter Orchidektomie 2,31 ng/ml Plasma. Diese Erhöhung ist hoch signifikant. Weiterhin zeigte sich, daß sowohl vor der Orchidektomie als auch nachher Schwankungen der LH-Konzentration auftraten. Vor der Orchidektomie ist eine Erhöhung bis zu 6,5 ng/ml Plasma zu sehen, nachher werden mehrere LH-Erhöhungen beobachtet.

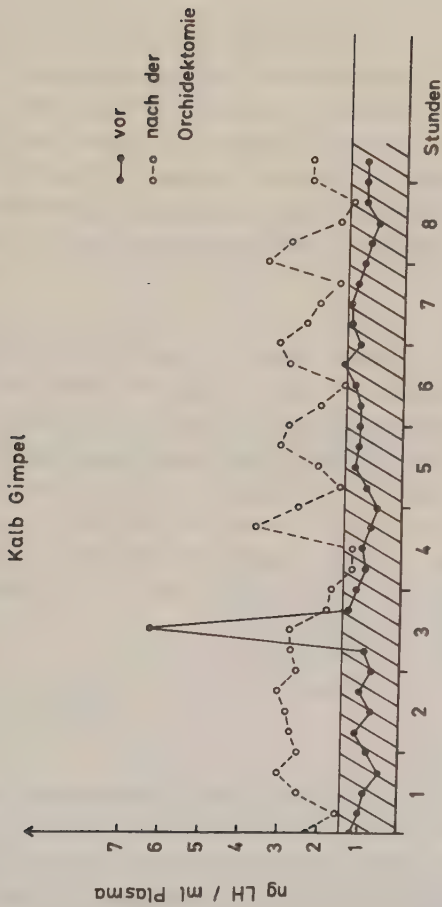


Abb. 8 LH-Spiegel im Plasma bei einem männlichen Kalb vor und 3 Wochen nach Orchidektomie

4.1.2. Versuche mit geschlechtsreifen Tieren

4.1.2.1. Männliche Tiere

Dem Bullen Kaliro wurde über einen Zeitraum von 7 Stunden (7 Uhr bis 14 Uhr) viertelstündlich Blut entnommen. In der Abb. 9 sind die Konzentrationsänderungen des LH im Blut wiedergegeben. Es zeigt sich nach einem ziemlich konstanten Verlauf des LH in den ersten 5 Stunden (Durchschnittswert bei 1 ng LH/ml Plasma) eine Erhöhung bis zu 5,0 ng/ml Plasma. Diese Erhöhung dauerte insgesamt 1,5 Stunden.

In einem folgenden Versuch (siehe dazu Abb. 10) wurde zusammenhängend 32 Stunden lang in viertelstündlichem Abstand Blut entnommen. Die Durchschnittswerte des LH liegen in dem Bereich zwischen 0,5 und 1,0 ng LH/ml Plasma. Nach 21 Stunden zeigt sich eine LH-Erhöhung bis zu 2,5 ng, wobei nach 1,5 Stunden die Ausgangswerte wieder erreicht werden. Zu Beginn und am Ende des Versuches steigen die LH-Werte ebenfalls über die durchschnittlichen Werte an. Der höchste Wert liegt hierbei jeweils bei 1,6 ng LH/ml Plasma.

4.1.2.2. Weibliche Tiere

Der Kuh Wanda wurde 28 Stunden lang viertelstündlich Blut entnommen, der Kuh Peppa 24 Stunden lang. In der Abb. 11 sind die Konzentrationsänderungen des LH wiedergegeben. Die Blutentnahme erfolgte am 19. Zyklustag bei der Kuh Wanda, am 14. Zyklustag bei der Kuh Peppa. Bei Versuchsbeginn konnten im Falle der Kuh Wanda deutliche Brunstsymptome festgestellt werden. Am Anfang des Versuches wurden bei diesem Tier sehr hohe LH-Werte erreicht.

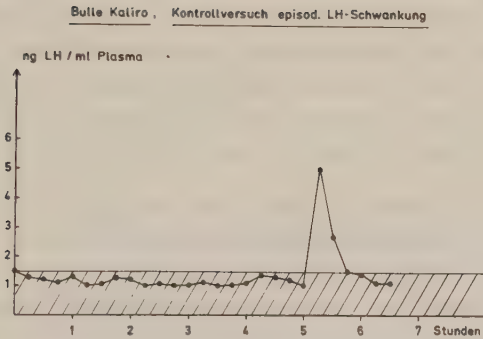


Abb. 9 LH-Spiegel im Plasma eines Bullen nach Blutentnahme in viertelstündlichem Abstand

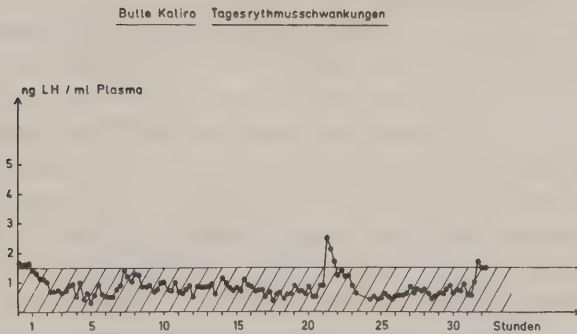


Abb. 10 LH-Spiegel im Plasma eines Bullen nach Blutentnahmen in viertelstündlichem Abstand über einen Zeitraum von 32 Stunden

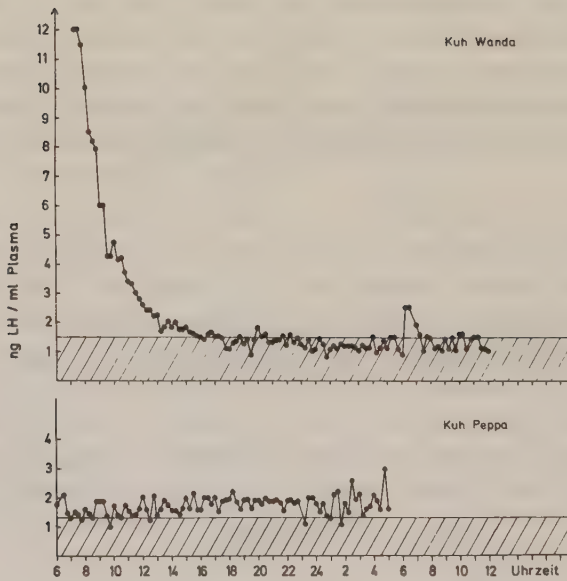


Abb. 11 LH-Spiegel im Plasma von Kühen nach Blut-
entnahmen in viertelstündlichem Abstand über
einen Zeitraum von 28 bzw. 24 Stunden

Der höchste Wert lag bei über 16 ng LH/ml Plasma. Nach 7 Stunden sind die Werte wieder auf Basishöhe abgefallen und bleiben bis Versuchsende, zwischen 1,0 und 1,5 ng schwankend, ziemlich konstant, mit Ausnahme eines leichten Anstieges nach 23 Stunden, der 2,5 ng LH/ml Plasma erreicht und etwa 30 Minuten anhält.

Sehr ruhig ist der Verlauf der LH-Kurve bei der Kuh Peppa (Abb. 11). Die LH-Werte schwanken zwischen 1,5 und 2,0 ng/ml Plasma. Nach 20 Stunden kommt es zu 2 Erhöhungen über die erwähnten Schwankungen hinaus auf 2,6 bzw. 3,0 ng LH/ml Plasma. Diese LH-Erhöhungen dauern 60 bzw. 30 Minuten.

4.2. LH-Freisetzung nach Injektion des synthetischen Gn-RH

4.2.1. Versuche mit männlichen Kälbern

4.2.1.1. Dosis von Gn-RH, gewichtsbezogen

Zwei männlichen Kälbern wurde in annähernd dreiwöchigen Abständen Gn-RH appliziert. Injiziert wurde 1 µg Gn-RH pro kg Körpergewicht. Bei den Versuchen am 19. und 40. Lebenstag wurde das Gn-RH intramuskulär injiziert, bei den darauffolgenden Versuchen intravenös.

Im Falle des Kalbes Gerd (Abb. 12, Tab. 3) wird bereits am 69. Lebenstag, 30 Minuten nach der Injektion ein LH-Gipfelwert von 33,5 ng/ml Plasma erreicht. Dieser Wert wird am 87. und 109. Lebenstag noch überschritten. Bei den Versuchen am 135., 172., 227. und 283. Lebenstag werden diese hohen Werte nicht mehr erreicht.

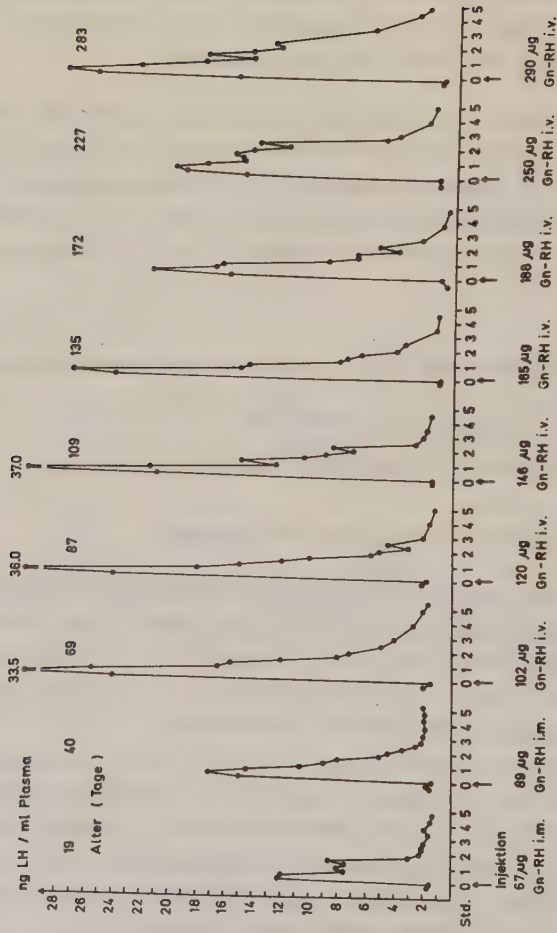


Abb. 12 Bullenkalb Gerd: LH-Konzentrationen im Plasma nach Applikation von 1 µg Gn-RH pro kg Körpergewicht in Abhängigkeit vom Lebensalter

Tabelle 3

Bullenkalb Gerd: LH-Freisetzung nach Injektion von 1 µg Gn-RH pro kg Körpergewicht

Alter Tage	Gewicht kg	Applika- tionsart	LH-Ausgangs- wert ng/ml Plasma	LH-Spitzenwert		Zeitintervall, in dem die LH-Werte über 4 ng/ml Plasma liegen Min.
				LH-Wert ng/ml Plasma	Zeit nach Injektion Min.	
19	67	i.m.	1,6	12,2	15	96
40	89	i.m.	1,55	17,2	30	120
69	102	i.v.	2,15	33,5	30	174
87	120	i.v.	1,9	36,2	30	126
109	146	i.v.	1,5	37,0	30	144
135	165	i.v.	0,95	27,5	30	120
172	188	i.v.	0,8	21,5	30	144
227	250	i.v.	1,2	20,0	45	240
283	290	i.v.	1,8	28,0	45	240

Die Zeit wiederum, die zwischen Injektion und Gipfelwert verstreicht, schwankt zwischen 15 und 45 Minuten. Das Zeitintervall, in dem die LH-Werte über 4,0 ng/ml Plasma liegen, steigt nicht eindeutig mit zunehmendem Alter. Allerdings zeigt sich eine gewisse Tendenz zur Zunahme dieser Werte vor der Pubertät.

Bei der Versuchsreihe mit dem Kalb Gilch (siehe dazu Abb. 13 und Tab. 4) kommt es nicht zu solch hohen LH-Gipfelwerten wie beim Kalb Gerd. Hier wurde beim Versuch im Alter von 80 Lebenstagen 22,5 ng LH/ml Plasma erreicht. Der höchste LH-Gipfelwert wird am 150. Lebenstag mit 178 µg Gn-RH erreicht. Er beträgt hier 25 ng/ml Plasma. Die Zeit, die zwischen Injektion und LH-Gipfelwert verstreicht, beträgt mit Ausnahme eines Falles (Versuch am 80. Lebenstag) 30 Minuten. Auch hier kann bezüglich des Zeitintervalles, in dem die LH-Werte über 4 ng/ml Plasma liegen, keine Aussage über Alters- bzw. Dosisabhängigkeit gemacht werden. Ebensowenig besteht ein Zusammenhang zwischen der Höhe des LH-Gipfelwertes und der Zeit, in der die LH-Werte über 4 ng LH/ml Plasma liegen.

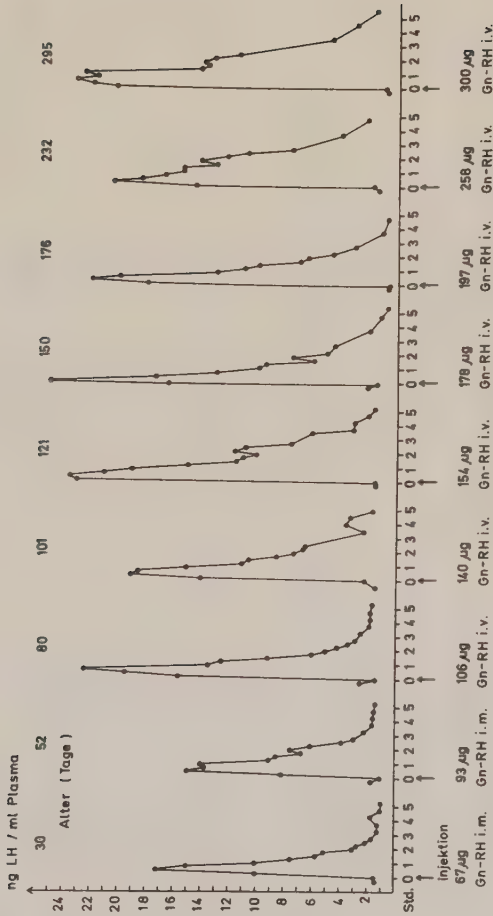


Abb. 13 Bullenkalb Gilch: LH-Konzentrationen im Plasma nach Applikation von 1 µg Gn-RH pro kg Körpergewicht in Abhängigkeit vom Alter

Tabelle 4

Bullenkalb Gilch: LH-Freisetzung nach Injektion von Gn-RH

Alter Tage	Gewicht kg	Applika- tionsart	LH-Ausgangs- wert ng/ml Plasma	LH-Spitzenwert		Zeitintervall, in dem die LH-Werte über 4 ng/ml Plasma liegen Min.
				LH-Wert ng/ml Plasma	Zeit nach Injektion Min.	
30	67	i.m.	1,35	17,2	30	108
52	93	i.m.	1,50	15,0	30	144
80	106	i.v.	1,85	22,5	45	138
101	140	i.v.	1,7	19,0	30	180
121	154	i.v.	1,6	23,5	30	222
150	178	i.v.	1,85	25,0	30	194
176	197	i.v.	0,6	22,0	30	144
232	285	i.v.	1,5	20,5	30	216
295	300	i.v.	0,8	23,2	45	234

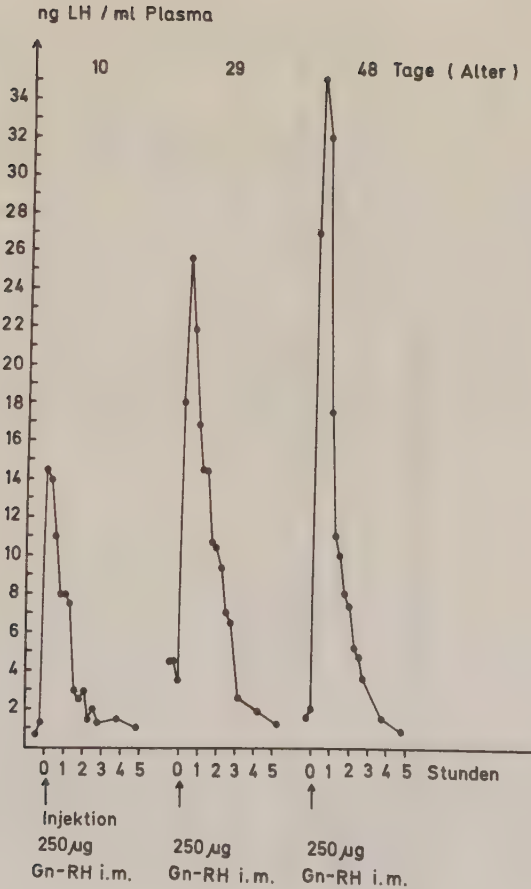


Abb. 14 Bullenkalb Zar: LH-Konzentrationen im Plasma nach Applikation von 250 µg Gn-RH in Abhängigkeit vom Alter

Tabelle 5

Bullenkalb Zar: LH-Freisetzung von Injektion von 250 µg Gn-RH

Alter Tage	Gewicht kg	LH-Ausgangs- wert ng/ml Plasma	LH-Spitzenwert		Zeitintervall, in dem die LH-Werte über 4 ng/ml Plasma liegen Min.
			LH-Wert ng/ml Plasma	Zeit nach Injektion Min.	
10	48	1,3	14,5	15	96
29	60	3,5	25,5	30	180
48	75	2,0	35,0	30	158

4.2.1.2. Dosis Gn-RH, konstant

Dem männlichen Kalb Zar wurde das erste Mal am 10. Lebenstag, dann am 29. sowie am 48. Lebenstag 250 µg Gn-RH intramuskulär injiziert. Dabei kam es, wie aus Tab. 5 und Abb. 14 hervorgeht, beim 1. Versuch am 10. Lebenstag zu einer LH-Freisetzung mit einem Gipfelwert von 14,5 ng/ml Plasma. Die LH-Werte lagen dabei 96 Minuten über 4 ng/ml Plasma. Beim 2. Versuch am 29. Lebenstag und beim 3. Versuch am 48. Lebenstag wurden jeweils sehr viel höhere LH-Gipfelwerte von 25,5 bzw. 35,0 ng/ml Plasma erreicht. Das Zeitintervall, in dem die Werte über 4,0 ng lagen, betrug 186 bzw. 156 Minuten. In keinem Fall wurde die Zeit von 30 Minuten von der Injektion bis zum Auftreten des Gipfelwertes überschritten.

4.2.2. Versuche mit weiblichen Kälbern

4.2.2.1. Dosis Gn-RH, gewichtsbezogen

Zwei weiblichen Kälbern wurde in annähernd dreiwöchigen Abständen Gn-RH injiziert, und zwar 1 µg Gn-RH pro kg Körpergewicht. So erhielt das Kalb Kleva am 11. Lebenstag bei einem Gewicht von 55 kg 55 µg Gn-RH intravenös injiziert.

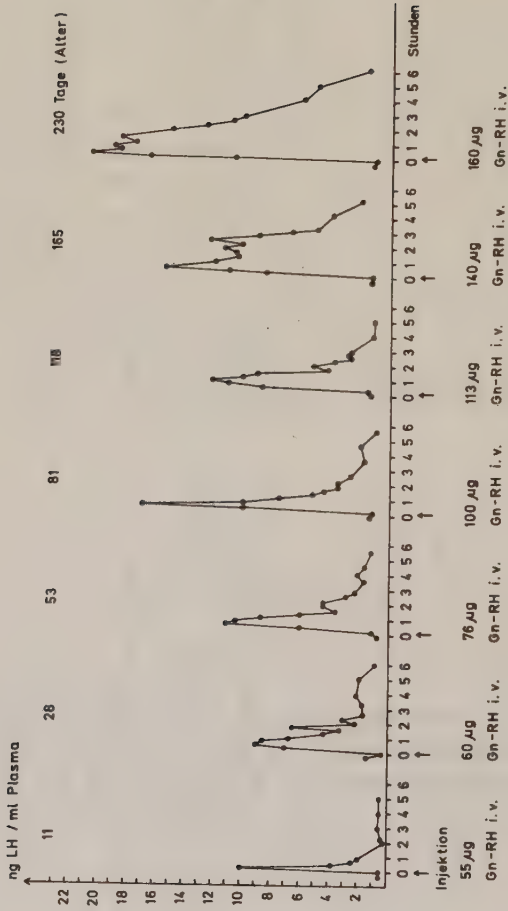


Abb. 15 Kalb Kleva: LH-Konzentration im Plasma nach Applikation von 1 µg Gn-RH/kg Körpergewicht in Abhängigkeit vom Alter

Tabelle 6

Kalb Kleva: LH-Freisetzung nach intravenöser Injektion von 1 µg Gn-RH pro kg Körpergewicht

Alter Tage	Gewicht kg	LH-Ausgangs- wert ng/ml Plasma	LH-Spitzenwert		Zeitintervall, in dem die LH-Werte über 4 ng/ml Plasma liegen Min.
			LH-Wert ng/ml Plasma	Zeit nach Injektion Min.	
11	55	0,5	10,0	15	19
28	60	0,7	9,0	30	90
53	76	1,0	11,5	30	114
81	100	1,3	17,0	30	90
118	113	1,3	12,0	45	114
165	140	1,4	15,4	45	234
230	160	1,1	20,5	45	276

In der Abb. 15 sind die Konzentrationsänderungen des LH im Blut bei dieser Versuchsreihe wiedergegeben. Es ist daraus zu erkennen, daß im Alter von 11 und 28 Tagen annähernd die gleichen LH-Spitzenwerte erreicht werden, in den darauffolgenden Versuchen aber, am 53. und 81. Lebenstag, jeweils höhere Spitzenwerte. Am 118. Lebenstag wird jedoch mit 113 μg Gn-RH intravenös injiziert und wieder nur ein LH-Spitzenwert von 12 ng LH/ml Plasma erreicht. Die darauffolgenden Spitzenwerte bei den Versuchen am 165. und 230. Lebenstag liegen wieder sehr viel höher (siehe auch Tab. 6).

Etwas anders liegen die Verhältnisse bei dem Kalb Klara (siehe dazu Abb. 16). Hier bleiben die LH-Spitzenwerte vom 139. bis zum 232. Lebenstag annähernd von gleicher Größe. Sie liegen im Bereich zwischen 9,0 und 12,0 ng LH/ml Plasma. Erst ab dem 288. Lebenstag werden über 20 ng LH/ml Plasma ausgeschüttet. Die LH-Kurven vom 78. und 108. Lebenstag sind nicht direkt zu vergleichen, weil hierbei das Gn-RH intramuskulär injiziert wurde (siehe dazu auch Tab. 7).

Neben der Höhe des LH-Spitzenwertes werden noch folgende Kurvenparameter zur Klärung des Zusammenhanges LH-Freisetzung und Alter, Gewicht bzw. Dosis, herangezogen. Es handelt sich zum einen um die Zeitspanne, in der die LH-Werte über 4 ng/ml Plasma liegen, zum anderen um die Zeit zwischen Injektion und LH-Spitzenwert. Aus den angegebenen Tabellen ist ersichtlich, daß die Zeit, die zwischen Injektion und LH-Spitzenwert verstreicht, 45 Minuten nicht überschreitet, unabhängig von der Höhe des Spitzenwertes.

Weiterhin ist ersichtlich, daß im allgemeinen die Zeit, in der die LH-Werte über 4 ng/ml Plasma liegen, bei hohen LH-Spitzenwerten länger ist.

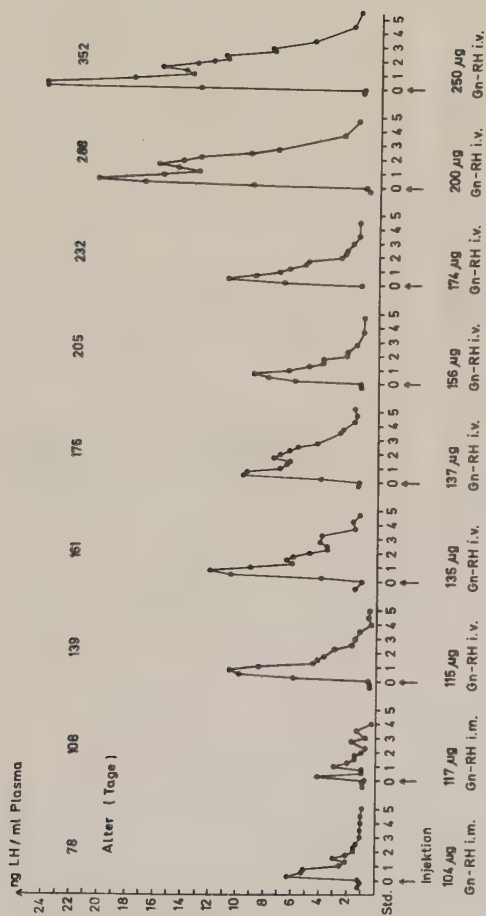


Abb. 16 Kalb Klara: LH-Konzentrationen im Plasma nach Applikation von 1 µg Gn-RH pro kg Körpergewicht in Abhängigkeit vom Alter

Tabelle 7

Kalb Klara: LH-Freisetzung nach Injektion von 1 μ g Gn-RH pro kg Körpergewicht

Alter Tage	Gewicht kg	Applika- tionsart	LH-Ausgangs- wert ng/ml Plasma	LH-Spitzenwert		Zeitintervall, in dem die LH-Werte über 4 ng/ml Plasma liegen Min.
				LH-Wert ng/ml Plasma	Zeit nach Injektion Min.	
78	104	i.m.	1,0	6,3	15	42
108	117	i.m.	0,9	4,2	15	--
139	115	i.v.	0,5	10,6	45	64
161	135	i.v.	1,25	12,0	45	111
176	139	i.v.	1,35	9,7	30	216
205	156	i.v.	1,30	9,0	45	78
232	174	i.v.	1,30	11,0	30	102
288	200	i.v.	0,90	20,4	45	198
352	250	i.v.	1,20	24,0	30	219

4.2.2.2. Dosis Gn-RH, konstant

Zwei weiblichen Kälbern wurde am 10. bzw. 15. Lebenstag und dann in annähernd vierwöchigen Abständen jeweils 250 µg Gn-RH intramuskulär injiziert.

Wie aus Abb. 17 und Tab. 8, im Falle des weiblichen Kalbes Nora, zu sehen ist, kam es dabei am 10. Lebenstag zu einer LH-Freisetzung mit einem LH-Spitzenwert von 11 ng/ml Plasma. Am 41. Lebenstag zu einem Gipfelwert von 19,5 und am 70. Lebenstag zu einem solchen von 23,8 ng HL/ml Plasma.

In Tab. 8 sind einige Kurvenparameter zusammengefaßt. Dabei zeigt sich, daß kein Zusammenhang zwischen der Zunahme der LH-Spitzenwerte und der Zeit, in der die LH-Werte über 4 ng/ml Plasma liegen, besteht.

Bei dem Kalb Karola (Abb. 18) wurde der erste Versuch am 15. Lebenstag durchgeführt. Hierbei wurde nach 250 µg Gn-RH eine Freisetzung mit einem LH-Gipfelwert von 8,5 ng/ml Plasma gemessen. Beim zweiten Versuch am 46. Lebenstag wurde ein LH-Spitzenwert von 21,0 ng/ml Plasma erreicht und am 75. Lebenstag ein solcher von 23,5 ng.

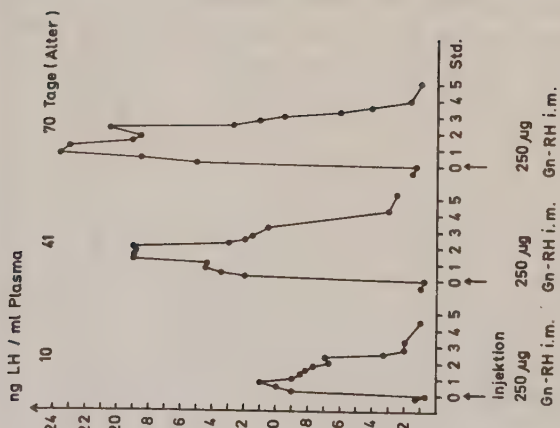


Abb. 17 weibl. Kalb Nora: LH-Konzentrationen im Plasma nach Applikation von 250 µg Gn-RH in Abhängigkeit vom Alter

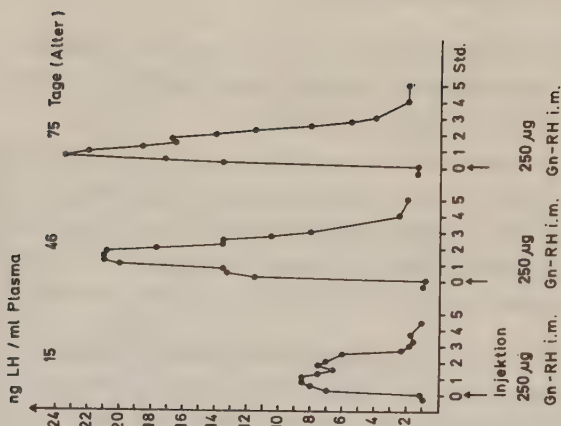


Abb. 18 weibl. Kalb Karola: LH-Konzentrationen im Plasma nach Applikation von 250 µg Gn-RH in Abhängigkeit vom Alter

Tabelle 8

Kalb Nora: LH-Freisetzung nach intramuskulärer Injektion von 250 µg Gn-RH

Alter Tage	Gewicht kg	LH-Ausgangs- wert ng/ml Plasma	LH-Spitzenwert		Zeitintervall, in dem die LH-Werte über 4 ng/ml Plasma liegen Min.
			LH-Wert ng/ml Plasma	Zeit nach Injektion Min.	
10	45	1,15	11,0	45	144
41	52	0,95	19,5	75	240
70	76	1,3	23,8	45	181

Tabelle 9

Kalb Karola: LH-Freisetzung nach intramuskulärer Injektion von 250 µg Gn-RH

Alter Tage	Gewicht kg	LH-Ausgangs- wert ng/ml Plasma	LH-Spitzenwert		Zeitintervall, in dem die LH-Werte über 4 ng/ml Plasma liegen Min.
			LH-Wert ng/ml Plasma	Zeit nach Injektion Min.	
15	54	1,25	8,5	45	133
46	62	1,0	21,0	75	219
75	79	1,3	23,5	45	175

4.2.3. Versuche bei Kalbinnen während verschiedener Zyklusphasen

Die Versuche wurden mit Kalbinnen durchgeführt. Es wurde immer die gleiche Dosis Gn-RH von 250 μ g am 4. - 5., 11. oder 12., 17. - 18. Tag des Zyklus intravenös injiziert. Pro Versuchsgruppe waren 4 Tiere im Versuch.

Die Ergebnisse sind in Abb. 19 zusammengefaßt (Mittelwerte mit Standardabweichung und Flächen unter den Kurven). Man kann daraus ersehen, daß es zu einer verminderten LH-Freisetzung am 11. - 12. Zyklustag kommt. an diesen Versuchstagen war ein Progesteronspiegel von 6,5 ng/ml Plasma meßbar. Die verminderte Freisetzung (Fläche unter der Kurve von 45 Flächeneinheiten an den Zyklustagen 11 - 12) ist hoch signifikant niedriger gegenüber dem Tag 17 - 18 (92 Flächeneinheiten). Der Unterschied in der LH-Freisetzung zwischen den Zyklustagen 11 - 12 und 4 - 5 (Fläche 63,3) ist nicht signifikant.

Bei den Versuchen an den Zyklustagen 4 - 5 und 17 - 18 wurden sehr niedrige Progesteronwerte von unter 1,0 ng/ml Plasma ermittelt.

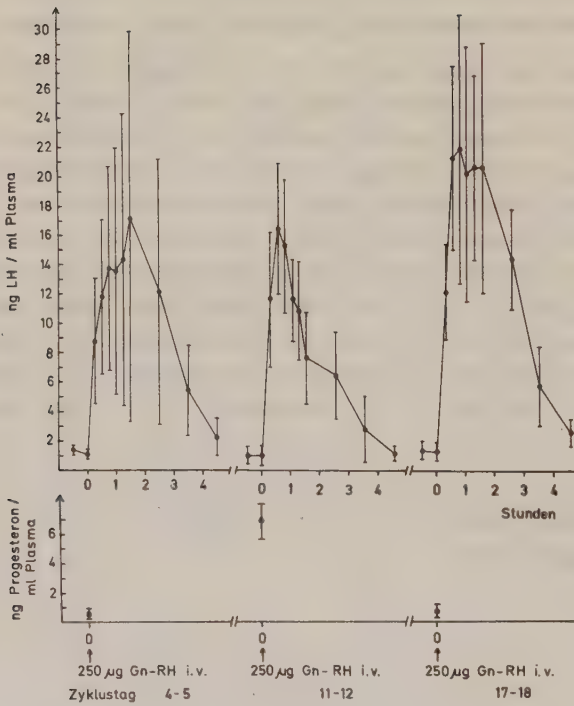


Abb. 19 Abhängigkeit der LH-Freisetzung nach Injektion von jeweils 250 μ g Gn-RH von verschiedenen Zyklusphasen (Mittelwerte und Standardabweichungen von jeweils 4 Kalbinnen)

4.3. Versuche zur Luteolyse und Zyklussynchronisation mit Hilfe von Prostaglandinen

4.3.1. Versuche mit Prostaglandin $F_{2\alpha}$

An insgesamt 5 Kalbinnen der Braunviehrasse wurde in 7 Versuchen die luteolytische Fähigkeit des $PgF_{2\alpha}$ getestet.

Die Kalbin Flora erhielt am 11. Tag des Zyklus 20 mg $PgF_{2\alpha}$ intravenös injiziert. Wie aus Abb. 20 zu ersehen ist, fiel das Progesteron 8 Stunden nach der Injektion auf 2,9 ng/ml Plasma. Der Ausgangswert lag bei 5,4 ng/ml Plasma. Am Tag nach der Injektion stieg es wieder bis zu dem Ausgangswert an, um dann am 3. Tag nach der Injektion abzufallen. Am 4., 5. und 6. Tag nach der Injektion wird der Tiefstand unter 1,0 ng/ml Plasma erreicht. Bei 3 kontrollierten Zyklen vor der Behandlung betrug die durchschnittliche Länge 20 Tage.

Am 6. Tag nach der Injektion kam es zu Brunsterscheinungen und, obwohl zu diesem Zeitpunkt ein Follikel am Ovar palpirt wurde, konnte keine Ovulation festgestellt werden. Ebenso wenig konnte ein präovulatorischer LH-Peak gemessen werden (bei Blutentnahmen in sechsständlichen Abständen). Bei diesem Tier wurde auch, wie früher beschrieben, bei jeder Blutentnahme der elektrische Widerstand des Scheidenschleims gemessen. Es ist aus Abb. 20 zu ersehen, daß der Widerstand am Tag der Brunst seinen Tiefstand von 30 Ohm erreicht.

Die Kalbin Bella erhielt am 11. Zyklustag 30 mg $PgF_{2\alpha}$ intramuskulär injiziert. Aus Abb. 21 ist ersichtlich, daß das Progesteron von einem Ausgangswert von 5,7 ng/ml

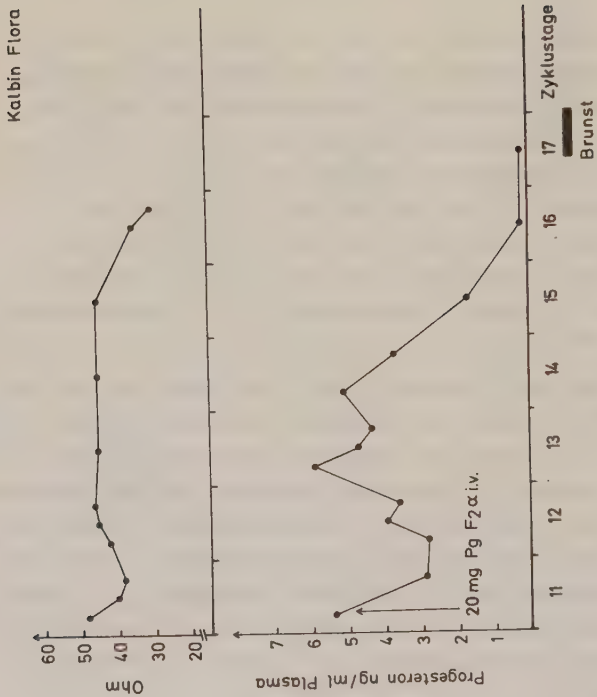


Abb. 20 Kalbin Flora: Auswirkung einer i.v. Injektion von 20 mg PgF₂α auf den Progesteronspiegel im Blut sowie auf den elektrischen Widerstand des Scheidenschleims

Tabelle 10

Einfluß von verschiedenen Dosierungen von $\text{PgF}_{2\alpha}$ nach Injektion um Zyklus-
mitte auf die Ovarfunktion beim Rind

Tier	Dosis $\text{PgF}_{2\alpha}$ mg	Injek- tions- art	Injek- tions- tag des Zyklus	Progesteron- wert ng/ml Plasma	Zeitintervall, bis die Proge- steronwerte un- ter 1 ng/ml Plasma liegen	Zeitinter- vall bis zum Auftre- ten d. Brunst Tage	Ovula- tion Tag	Zyklus- dauer nach Be- handlung Tage	Durch- schnittl. Be- Zyklus- dauer vor Behandlg. Tage
Flora	20	i.v.	11	5,4		6		17,5	20,6
Bella	30	i.m.	11	5,7		8		19	19,7
Edda	30	i.v.	11	9,8		7	7,5	18	19,6
Flora	40	i.v.	11	8,1		7	8	18	20,6
Ciba nach 7 ^h	30 20	i.v. i.v.	13	9,2	40 Std.	3	4	21	21,0
Deda	30 10	i.m. intra- vaginal	12	4,4	12 Std.	3	3,5	21	20,6

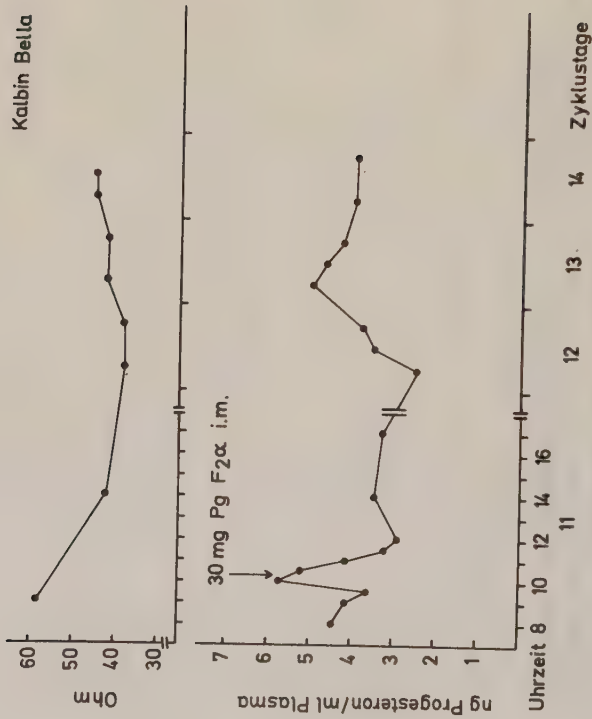


Abb. 21 Kalbin Bella: Auswirkung von i.m. Injektion auf den Progesteronspiegel im Blut sowie auf den elektrischen Widerstand des Scheidenschleims

Plasma nach 2 Stunden auf 2,8 ng/ml Plasma gefallen ist, in den nächsten Stunden jedoch wieder anstieg und 2 Tage nach der Injektion wieder den Ausgangswert erreicht hat. 8 Tage nach der Injektion (19. Zyklustag) von $\text{PgF}_{2\alpha}$ rinderte diese Kalbin. Bei 5 kontrollierten Zyklen vor der Behandlung betrug die Länge 19,7 Tage. Die Werte des elektrischen Widerstandes des Vaginalsekrets sind ebenfalls in der Abb. 21 eingezeichnet. Es fällt auf, daß es nach der Injektion zu einem leichten Abfall kommt. Als tiefste Werte wurden 38 Ohm am 1. Tag nach der Injektion gemessen, während am 2. und 3. Tag wieder höhere Werte gemessen wurden.

Die gleiche Dosis von 30 mg $\text{PgF}_{2\alpha}$, diesmal allerdings intravenös injiziert, bekam die Kalbin Edda, ebenfalls am 11. Zyklustag. Abb. 22 zeigt die Progesteronverlaufskurve sowie die Ohmwerte des Sekrets. Von einem Ausgangswert von 9,8 ng/ml Plasma zum Zeitpunkt der Injektion fallen die Progesteronwerte innerhalb von 7 Stunden auf 4,5 ng ab. An den darauf folgenden 5 Tagen bleibt das Progesteron bei Werten um 4,0 ng/ml Plasma. Erst am 6. Tag nach der Injektion kommt es zu einem Abfall unter 1,0 ng/ml Plasma. Dies ist der 17. Tag des Zyklus. Am 2. Tag nach der Injektion zeigte sich glasklarer Brunstsekret und eine Blase war am Ovar zu palpieren, obwohl keine sonstigen Anzeichen auf eine Brunst hindeuteten. Am 19. Zyklustag kam diese Kalbin in die Brunst, also 8 Tage nach der erfolgten Prostaglandinbehandlung. Die durchschnittliche Länge von 5 kontrollierten Zyklen vor der Behandlung betrug 19,6 Tage (siehe Tab. 10). Wie bei der Kalbin Bella kam es auch hier zu einem leichten Abfall des elektrischen Widerstandes des Sekrets nach der Injektion.

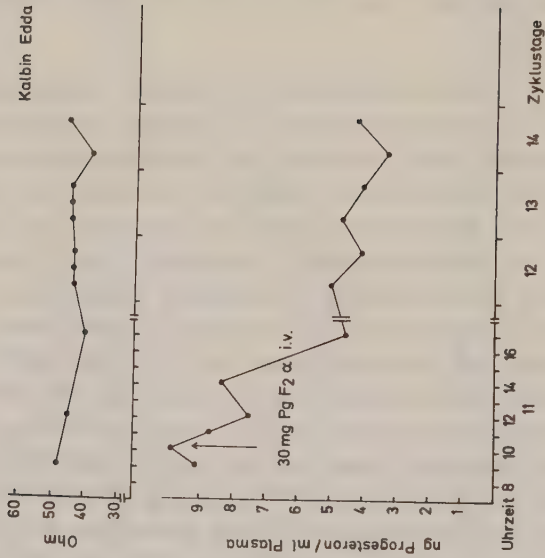


Abb. 22 Kalbin Edda: Auswirkung einer i.v. Injektion von 30 mg $\text{PgF}_{2\alpha}$ auf den Progesteronspiegel im Blut sowie auf den elektrischen Widerstand des Scheidenschleims

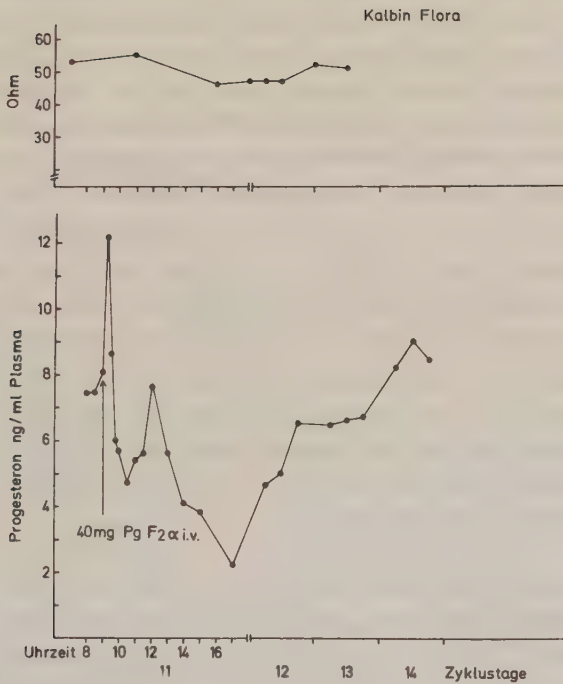


Abb. 23 Kalbin Flora: Auswirkung einer i.v. Injektion von 40 mg $\text{PgF}_{2\alpha}$ auf den Progesteronspiegel im Blut sowie auf den elektrischen Widerstand des Scheidenschleims

Zwei Monate nach der beschriebenen Behandlung mit 20 mg Prostaglandin erhielt die Kalbin Flora am 11. Zyklustag 40 mg $\text{PgF}_{2\alpha}$ intravenös injiziert. Hier schlossen sich an die Injektion häufigere Blutentnahmen in 15-minütlichem Abstand an. In Abb. 23 sind die Progesteron-Verlaufskurve sowie die Widerstandswerte des Vaginalschleims abgebildet. Dabei zeigt sich, daß es nach einem Progesteronausgangswert von 8,1 ng/ml Plasma innerhalb von 15 Minuten zu einem Anstieg auf 12,2 ng/ml Plasma kam. Anschließend fiel die Progesteronkonzentration innerhalb von 8 Stunden auf einen Tiefstand von 2,2 ng. Danach stiegen die Werte an und erreichten am 3. Tag die Ausgangskonzentrationen.

Die Kalbin Flora rinderte am 7. Tag nach der Behandlung, also am 18. Zyklustag (siehe Tab. 10). Die durchschnittliche Zykluslänge vor der Behandlung betrug 20,6 Tage.

Auch hier fielen die Ohmwerte nach der Injektion leicht ab (Abb. 23). Erst am 8. Tag nach der Injektion (= 19. Zyklustag) zeigte die Kalbin deutliche Brunsterscheinungen, wobei die Ovulation am 9. Tag nach der Injektion rektal festgestellt werden konnte.

Die Kalbin Ciba wurde am 13. Zyklustag mit zwei Injektionen von Prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$ im Abstand von 7 Stunden behandelt. Die erste Dosis betrug 30 mg, die zweite 20 mg $\text{PgF}_{2\alpha}$. Auch hier schlossen sich an die Injektion häufigere Blutentnahmen in 15-minütlichem Abstand an. In Abb. 24 sind die Konzentrationsänderungen von Progesteron, sowie der Zeitpunkt der Brunst und Ovulation dargestellt. Dabei zeigt sich wiederum kurz nach der 1. Injektion von $\text{PgF}_{2\alpha}$ ein Anstieg von Progesteron. Nach 45 Minuten jedoch kommt es zu einem steilen Abfall bis zu Werten, die etwa die Hälfte des Ausgangswertes von 9,2 ng/ml Plasma betragen. Bis zur 2. Injektion bleiben die Progesteronwerte auf diesem Niveau.

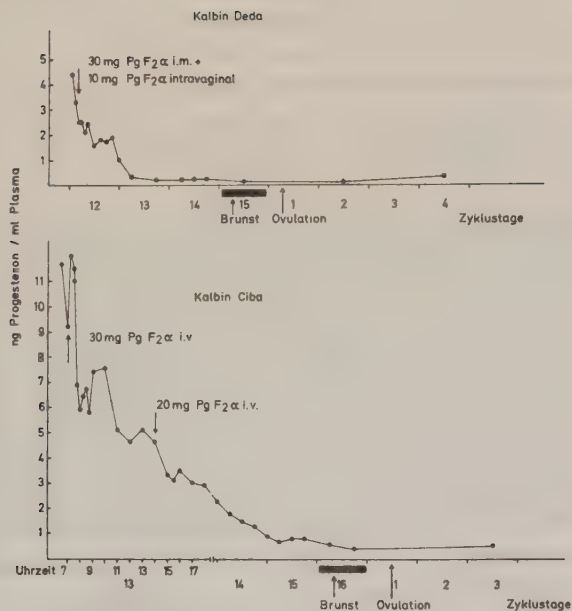


Abb. 24 Kalbin Deda (oben): Auswirkung von gleichzeitigen i.m. und intravaginalen Applikationen von PgF₂α auf den Progesteronspiegel im Blut

Kalbin Ciba (unten): Auswirkung von 2 i.v. Injektionen von PgF₂α im Abstand von 7 Stunden auf den Progesteronspiegel im Blut

Nach der 2. Injektion von 20 mg $\text{PgF}_{2\alpha}$ kommt es zu einem allmählichen Abfall des Progesterons, wobei es 40 Stunden von der 1. Injektion und 33 Stunden von der 2. Injektion an gerechnet dauert, bis das Progesteron unter 1,0 ng/ml Plasma liegt. Am 2. bis 6. Tag nach der Behandlung liegen die Werte unter 1,0 ng/ml Plasma. In Tab. 10 sind weitere Einzeldaten aus diesem Versuch angeführt. Drei Tage nach der beschriebenen Behandlung zeigte die Kalbin deutlich Brunst. Durch die rektale Kontrolle der Ovarien wurde festgestellt, daß die Ovulation am 4. Tag nach der Behandlung stattfand. Der sich an diese Brunst anschließende Zyklus hatte eine Länge von 21 Tagen, war also vergleichbar den vorangegangenen Kontrollzyklen.

Die Kalbin Deda erhielt am 12. Zyklustag (s. Tab. 10) 30 mg $\text{PgF}_{2\alpha}$ intramuskulär und gleichzeitig 10 mg intravaginal (Abb. 24). Dabei zeigte sich, daß bei stündlicher Blutentnahme am Versuchstag es zu einer Luteolyse innerhalb von 12 Stunden nach der Injektion kam. Der Ausgangswert lag dabei bei 4,4 ng/ml Plasma, 12 Stunden später waren bereits Werte unter 1,0 ng erreicht. Am 3. Tag nach der Behandlung zeigte sich bei dem Tier eine deutliche Brunst. Die Ovulation erfolgte, rektal kontrolliert, am 4. Tag nach der Injektion. Der sich anschließende Zyklus hatte eine Länge von 21 Tagen, entsprechend den vorangegangenen Kontrollzyklen.

Nebenerscheinungen nach Injektionen von Prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$

Bei der Applikation von 30 mg $\text{PgF}_{2\alpha}$ intramuskulär (Bella) wurden keine Nebenwirkungen festgestellt.

Bei allen anderen Versuchen zeigten sich Nebenerscheinungen leichten bis mittleren Grades. Am stärksten ausgeprägt waren

die Erscheinungen nach 40 mg $\text{PgF}_{2\alpha}$ intravenös (Flora). Es kam dabei zu starkem Speichelfluß, starkem Zittern am ganzen Körper, häufigerer Kot- und Harnabsatz oder Drängen auf Kot und Harn, sowie deutlich sichtbare Unruhe. Bei den anderen Versuchen konnten dieselben Erscheinungen, nur leichteren Grades, beobachtet werden. Beim Versuch mit 2 Injektionen im Abstand von 7 Stunden wurden auch nach der 2. Injektion diese Erscheinungen beobachtet.

4.3.2. Vorversuche mit dem Prostaglandinanalogs ICI 80996

Die luteolytische Fähigkeit des Prostaglandinanalogs ICI 80996 wurde an 3 Kalbinnen der Braunvieh- und an 4 Kühen der Höhenfleckviehrasse erprobt. Es wurde durchwegs dieselbe Dosis und Injektionsart von 0,5 mg intramuskulär gewählt. Die Versuche wurden am 11. Zyklustag begonnen, mit Ausnahme der Kuh Xanta, welche am 10. Zyklustag behandelt wurde. Die Ergebnisse, d.h. der Progesteronausgangswert, die Dauer der Luteolyse, das Eintreten der Brunst und Ovulation sowie des präovulatorischen LH-Peaks sowie die Ohmwerte des Vaginalschleims und die Dauer des nachfolgenden Zyklus sind in der Tab. 11 wiedergegeben. Zusammenfassend geht aus dieser Tabelle hervor:

Progesteronausgangswert:

Dieser Wert stellt die Konzentration von Progesteron dar, die vor der Injektion des Prostaglandinanalogs im Blutplasma meßbar war.

Als höchster Wert wurden 6,9 ng/ml Plasma im Falle der Kalbin Helga gemessen. Der tiefste Ausgangswert trat bei der Kuh Vroni mit 3,7 ng auf.

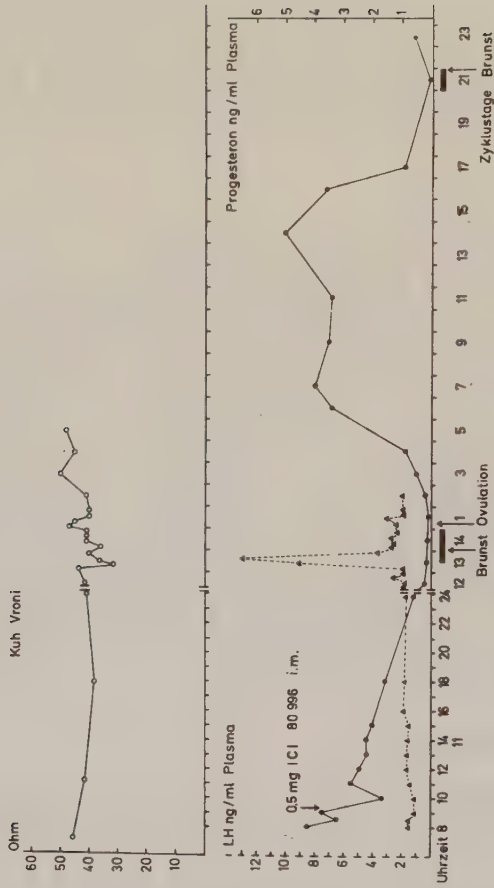


Abb. 25 Kuh Vroni: Einfluß einer intramuskulären Injektion von ICI 80996 auf den Progesteronspiegel im Blut sowie auf den elektrischen Widerstand des Scheidenschleims und auf die LH-Freisetzung

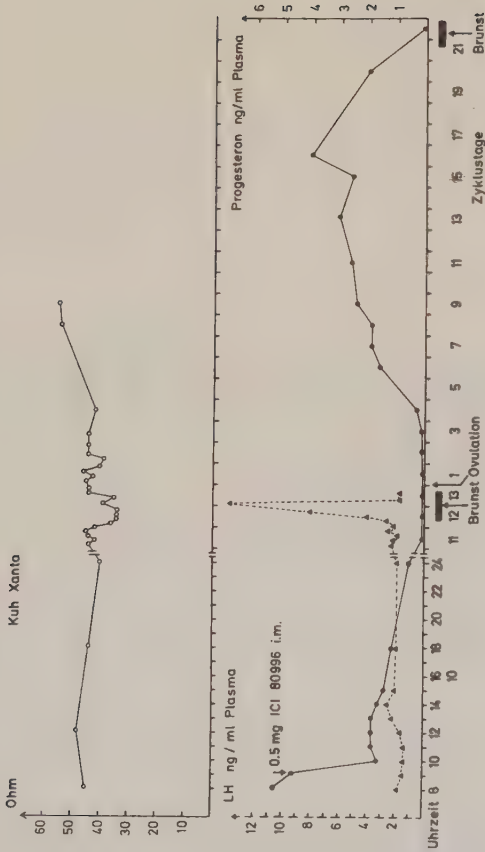


Abb. 26 Kuh Xanta: Einfluß einer intramuskulären Injektion von ICI 80996 auf den Progesteronspiegel im Blut sowie auf den elektrischen Widerstand des Scheidenschleims und auf die LH-Freisetzung

Tabelle 11

Induktion von Brunst und Ovulation nach Behandlung mit einem Prostaglandinanalogs

(ICI 80996, 0,5 mg i.m.)

Tier	Zyklus- tag der Behand- lung	Progesteron- wert nach Std. ng/ml Plasma	Luteo- lyse	Brunst- beginn (Tag) nach Behand- lung	Präovulat. LH-Peak ng/ml plasma nach Be- handlung	Ovula- tion h nach Be- handlung	Zyklus- dauer nach Be- handlung Tage	Zyklus- dauer vor Be- handlung Tage	Scheidenschleim- widerstand (Ohm) bei Brunst Behand- lungs- beginn
Rita	11	4,4	21	3,5	100	120	19	20	50
Helga	11	6,9	22	5	130	148	20	20	48
Zilla	11	4,5	21	4	-	120	22	21	48
Uta	11	4,3	21	3,5	96	120	21	21	56
Vroni	11	3,7	15	2,5	57	85	21	21	46
Xanta	10	4,6	15	2,5	69	84	22	21	45
Gilla	11	5,7	15	3	87	99	21	20	52
$\bar{x}$		4,8	18,7	3,4	89,8	110,8	20,8	20,5	49,2
s ($\pm$)		1,076	3,4	0,8	25,5	22,9	1,070	0,5	3,77
									2,874

Luteolyse:

Unter Dauer der Luteolyse wird hier die Zeit verstanden, die verstreicht, bis das Progesteron zu Werten unter 1,0 ng/ml Plasma abgesunken ist. Im Durchschnitt betrug diese Zeit 18,7 Stunden mit einer Standardabweichung von 3,4 Stunden. In der Abb. 25 und 26 (Vroni und Xanta) sind 2 typische Beispiele aus dieser Versuchsreihe herausgegriffen. Zu sehen ist daraus die Progesteronverlaufskurve bzw. die eintretende Luteolyse nach der Prostaglandininjektion. Im Durchschnitt bleibt das Progesteron, wie ebenfalls aus den beiden Abbildungen zu ersehen ist, 7 Tage unter 1,0 ng/ml Plasma.

Befunde am Geschlechtsapparat:

Gleichzeitig mit dem Abfall des Progesterons konnten erhebliche Veränderungen an den Ovarien und am Uterus beobachtet werden. In jedem Fall wurde vor der Injektion ein Corpus luteum (C.l.) palpiert. Diese Gelbkörper waren meist gut abgesetzt vom übrigen Ovargewebe und durch eine derb-weiche Konsistenz gut zu unterscheiden. Die Größe reichte von ca. 1,5 bis 2,0 cm Durchmesser. In einem Fall (Kalbin Helga) war ein etwa erbsengroßer Follikel am nicht den Gelbkörper tragenden Ovar palpierbar, welcher beim Berühren jedoch platzte. In den übrigen Fällen waren außer den Gelbkörpern keine Funktionsgebilde auffindbar. Die Veränderungen waren nach der Injektion in allen Fällen ähnlich, nur zeitlich bestanden Unterschiede. Die Gelbkörper nahmen nach der Injektion an Größe deutlich ab. Auffallend war auch eine deutliche Verhärtung des Gelbkörpergewebes. Ein Follikelwachstum konnte frühestens am 1. Tag nach der Behandlung rektal festgestellt werden. Die Follikel entwickelten

sich sowohl am gelbkörpertragenden als auch am anderen Ovar. Ohne Ausnahme nahmen diese Follikel dann an Größe zu, wurden weicher und begannen zu fluktuieren. Im Falle der Tiere Helga und Zilla wurde ein Follikelwachstum erst am 4. Tag nach der Injektion palpiert. Bei allen Tieren konnte etwa bis zu 6 Stunden nach der Behandlung eine deutliche Kontraktionsbereitschaft des Uterus bei Berührung beobachtet werden. Am Tage des Versuches wurden auch unterschiedliche Mengen rauchig getrübbten Schleimes bei allen Tieren in der Vagina festgestellt.

Brunstbeobachtung:

Anschwellung und Rötung der Vulva, Unruhe und Aufspringen auf Nachbartiere wurden (neben dem Vaginalschleim-Widerstand) als Zeichen einer Brunst gewertet. Diese trat, wie aus Tab. 11 hervorgeht, frühestens nach 2 1/2 Tagen ein. Eine Ausnahme bildeten wiederum die Tiere Helga und Zilla, welche erst am 5. resp. 4. Tag nach der Behandlung rinderten.

Präovulatorischer LH-Peak und Ovulation:

Um den Zeitpunkt der Ovulation genauer zu erfassen, wurde, wie schon erwähnt, in sechsständlichen Intervallen Blut entnommen und auf LH untersucht. Dabei wurden (mit Ausnahme der Kuh Zilla) die jeweiligen präovulatorischen LH-Peaks erfaßt. Im Schnitt trat dieser Peak $89,8 \pm 25,5$ Stunden nach der Injektion auf. In den Abb. 25 und 26 sind die LH-Konzentrationen von Versuchsbeginn bis zum Ende der ausgelösten Brunst als gestrichelte Linie eingezeichnet. In diesen beiden Fällen zeigen sich präovulatorische LH-Peaks bis zu 13 bzw. 17 ng/ml Plasma.

Durch rektale Kontrolle der Ovarien in 6-stündlichem Abstand wurde der Zeitpunkt der Ovulation festgestellt. Er lag (Tab. 11) im Durchschnitt bei $110,8 \pm 22,9$ Stunden nach der Injektion.

Elektrischer Widerstand des Scheidenschleims:

Bei allen Tieren wurde während des Versuches alle 6 Stunden der Widerstand des Scheidenschleims gemessen. Wie aus Tab. 11 zu sehen ist, betrug dieser im Durchschnitt vor der Behandlung 49 Ohm ($s = 3,7$). Zum Zeitpunkt der eingetretenen Brunst wurden im Durchschnitt 32 Ohm gemessen. Das typische Verhalten des elektrischen Widerstandes ist aus den Abb. 25 und 26 ersichtlich. Bei manchen Tieren fiel der Widerstand kurz nach der Behandlung leicht ab (Abb. 25), bei anderen Tieren blieb der Widerstand unverändert bis zur Brunst (Abb. 26).

Da die häufige Messung des Scheidenschleims zu Irritationen der Scheidenschleimhaut führte, wurde in den später zu beschreibenden Versuchen auf Messungen verzichtet.

Zykluslänge nach der Behandlung:

In den Abb. 25 und 26 ist der Tag, an dem die Ovulation stattfand, als Tag 1 eines neuen Zyklus bezeichnet. Bis zum Auftreten einer erneuten Brunst vergingen durchschnittlich 20,8 Tage (siehe auch Tab. 11 und Abb. 25 und 26.).

Nebenerscheinungen des Prostaglandinanalogs 80996:

Mit der gewählten Dosierung und Injektionsart konnten klinisch keine Nebenwirkungen festgestellt werden.

4.3.3. Verwendung des Präparates ICI 80996 zur Zyklus-synchronisation mit anschließender Besamung

Bei 9 Kühen der Höhenfleckviehrasse sowie bei 1 Kalbin der Braunviehrasse wurde, wie beschrieben, die Brunst mit Hilfe von $\text{PgF}_{2\alpha}$ -Analog ICI 80996 (0,5 mg intramuskulär) herbeigeführt und die Fertilität durch anschließende Besamung überprüft. Gleichzeitig mit der Besamung, die in jedem Fall 75 Stunden nach der Prostaglandininjektion erfolgte, wurden alle 10 Tiere mit 1500 µg des synthetischen Dekapeptids Gn-RH behandelt.

In der Tabelle 12 sind die wichtigsten Ergebnisse dieser Versuchsreihe zusammengefaßt. Von Bedeutung ist dabei der Progesteronausgangswert, die Zeitdauer der Luteolyse, der Brunstbeginn sowie der physiologische präovulatorische LH-Peak, der durch Gn-RH induzierte LH-Peak und die Ovulation.

Aus dieser Tabelle geht folgendes hervor:

Progesteronausgangswert:

Diese Werte liegen zwischen max. 6,9 ng und min. 2,5 ng Progesteron/ml Plasma. Im Schnitt lag dieser Wert bei 3,99 ng/ml Plasma (s. Tab. 12).

Luteolyse:

Im Durchschnitt wurden 17 Stunden benötigt, bis die Progesteronwerte unter 1,0 ng/ml Plasma abgesunken waren. In den Abb. 27 und 28 sind 2 typische Beispiele aus dieser Versuchsreihe gezeigt. Zu sehen ist daraus die nach der Injektion eingetretene Luteolyse. Weiterhin ist zu erkennen, daß es 7 Tage nach der eingetretenen Luteolyse, stattgehabten Brunst und Ovulation wieder zu einem Anstieg des Progesterons kam.

Tabelle 12

Auswirkung einer Behandlung mit dem Prostaglandinanalogs ICI 80996 (0,5 mg i.m.) auf Luteolyse, Ovulation und Fruchtbarkeit bei gleichzeitiger Verabreichung von Gn-RH (1500 µg i.m.) zum Zeitpunkt der Besamung

Tier	Tag der Behandlung	Progesteronwert nach 12 Std.	Luteolyse nach 12 Std.	Brunstbeginn (Tag) nach Behandlung	Besamung + Gn-RH nach Injektion in Std.	LH-Peak Stunden nach Behandlung	induz. LH-Peak	Ovulation nach Behandlung	Zeitintervall zwischen Besamung und Ovulation	Konzeption
Uta	12	5,25	12	3	75	-	78	87	12	trächtig
Sepia	12	3,24	12	2,5	75	54	78	69		nicht trächtig
Wanda	10	3,59	18	3	75	66	78	84	9	trächtig
Gilla	10	6,9	24	3	75	72	78	84	9	trächtig
Zilla	12	2,6	18	3	75	-	78	85	10	trächtig
Xanta	13	2,6	24	3	75	72	78	84	9	trächtig
Peppa	13	3,43	18	3	75	-	78	88	13	trächtig
Rosa	12	3,08	18	3	75	-	78	82	7	trächtig
Tina	12	6,7	18	3	75	69	78	84	9	trächtig
Ypsilon	8	2,5	18	3	75	51	78	78	3	trächtig
$\bar{x}$	11,4	3,99	17,0	2,9		64,0		82	9	
S ($\pm$)	1,5	1,67	5,0	0,1		9,2		5,4	2,8	

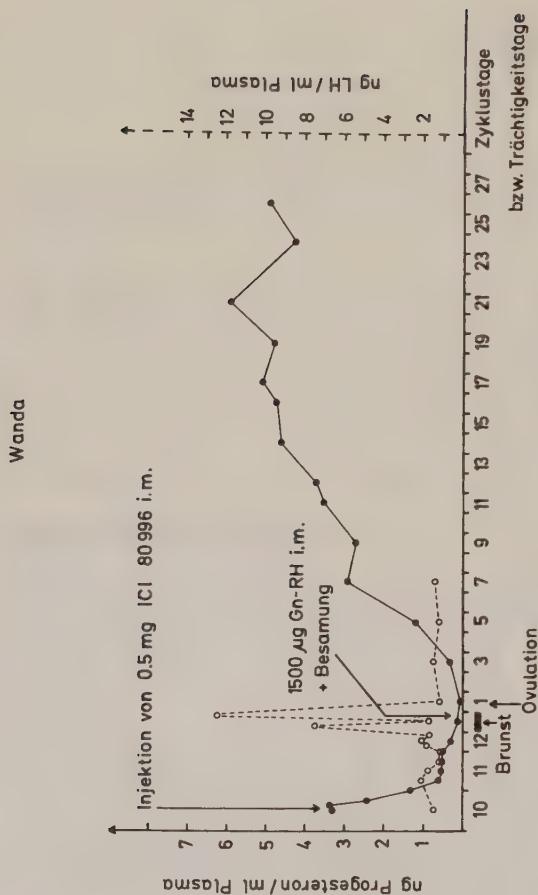


Abb. 27 Kuh Wanda: Progesteron- und LH-Werte nach Injektion von ICI 80996 sowie von 1500 µg Gn-RH gleichzeitig mit der künstlichen Besamung

Xanta

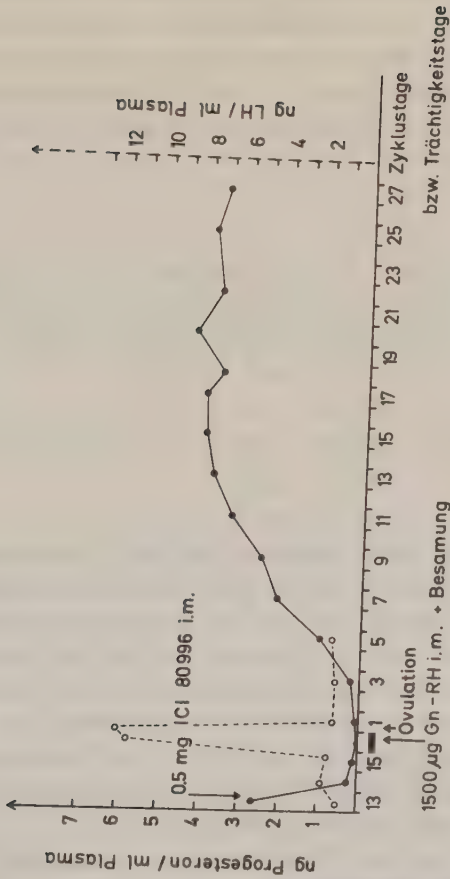


Abb. 28 Kuh Xanta: Progesteron- und LH-Werte nach Injektion von ICI 80996 sowie von 1500 µg Gn-RH gleichzeitig mit der künstlichen Besamung

Befunde am Geschlechtsapparat:

Die im vorhergehenden Kapitel beschriebenen Veränderungen an den Ovarien und insbesondere an den Gelbkörpern treffen auch hier voll und ganz zu. Auffallend war hier allerdings die starke Größenzunahme der Follikel, die bereits am 1. und 2. Tag nach der Behandlung angebildet wurden, 3 Stunden nach der Injektion des LH-Releasinghormons, wobei im Falle der Kuh Ypsilon die Ovulation nach 3 Stunden bereits erfolgt war.

Brunst:

Im Gegensatz zu der schon beschriebenen Versuchsreihe rinderten hier alle Tiere gleichmäßig am 3. Tag nach der Behandlung. Eine Ausnahme machte die Kuh Sepia, die bereits gegen Ende des 2. Tages rinderte.

Präovulatorischer LH-Peak, induzierter LH-Peak und Ovulation:

In sechs von den zehn Fällen wurden präovulatorische LH-Peaks gemessen. Diese LH-Peaks traten in der Regel zeitlich vor dem induzierten LH-Peak auf. In den Abb. 27, 28 und 29 ist zu sehen, daß vor der durch Gn-RH induzierten LH-Erhöhung der präovulatorische LH-Peak auftritt. In Abb. 27 ist ein Beispiel gezeigt, wo die Gn-RH-Injektion während der physiologischen LH-Peaks erfolgte. Man muß deshalb annehmen, daß in den Fällen, wo kein präovulatorischer LH-Peak gemessen wurde, induzierter und präovulatorischer LH-Peak zusammengefallen sind.

Weiterhin ist aus der Tab. 12 zu entnehmen, daß die Ovulation durchschnittlich 82 Stunden nach der Injektion erfolgte und daß - mit Ausnahme der Kuh Sepia - durchschnittlich 9 Stunden zwischen Ovulation und Besamung vergingen.

Trächtigkeit:

Bei allen 10 Tieren wurde 6 bis 7 Wochen nach der Besamung eine rektale Untersuchung zur Trächtigkeitsfeststellung durchgeführt. Dabei konnten mit Ausnahme der Kuh Sepia alle Tiere als trächtig angesprochen werden. Außer diesen rektalen Kontrollen wurde in 2-tägigem Abstand Blut von den Tieren entnommen, um so eine Aussage über die Funktion des Gelbkörpers machen zu können. Bei allen Tieren ergab sich dabei, daß das Progesteron (Abb. 27 und 28) nach der Besamung anstieg und auch über den Termin eines evtl. Nachrinderns am 21. oder 20. Tag nicht abfiel, d.h. der periodische Gelbkörper war zu einem Graviditätsgelbkörper geworden. Das einzige nicht trächtig gewordene Tier ist in Abb. 29 dargestellt. Man erkennt, daß nach der Besamung ein normaler Zyklus von 20 Tagen abgelaufen ist. Am 20./21. Tag nach der Besamung rinderte diese Kuh.

Sepia

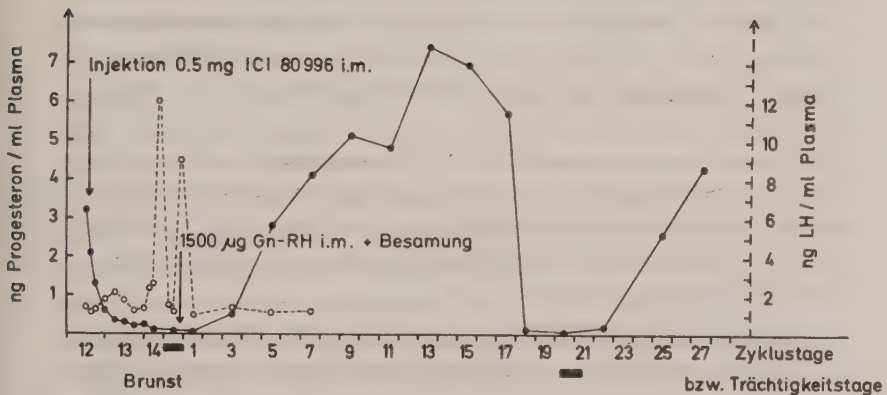


Abb. 29 Kuh Sepia: Progesteron- und LH-Werte nach Injektion von ICI 80996 sowie von 1500 µg Gn-RH gleichzeitig mit der künstlichen Besamung

5. Diskussion

5.1. Normalwerte und Schwankungen des Luteinisierungshormons im Rinderblut

Die Ergebnisse zeigen, daß sich das LH im Blut sowohl von juvenilen als auch von geschlechtsreifen Rindern durchaus nicht immer auf einem konstanten Basisniveau bewegt. Vielmehr ist die LH-Konzentration mehr oder weniger starken Schwankungen unterworfen. So wurden bei den einzelnen Altersgruppen Erhöhungen in der LH-Konzentration gemessen, die 3- bis 4-mal so groß sind wie der durchschnittliche Basispiegel des jeweiligen Tieres. Bei 4 Wochen alten männlichen Kälbern (s. auch Abb. 4) sind z.B. Erhöhungen bis zu 6 bzw. 6,5 ng/ml Plasma gemessen worden. Diese in der Literatur als "episodische Schwankungen" bezeichneten Ereignisse lassen sich bei fast allen untersuchten Kälbern und auch bei geschlechtsreifen Tieren, unabhängig vom Geschlecht, nachweisen. In manchen Fällen wurden gleichbleibende Basiswerte ohne besonders auffallende LH-Erhöhungen während der jeweils 8 Stunden dauernden Versuchszeit festgestellt, wie das z.B. beim Kalb Gilch (40 Wochen, Abb. 4) oder beim Kalb Isa (4 Wochen, Abb. 5) der Fall war.

Für diese Messungen ist die Blutentnahmefrequenz (in unseren Versuchen 15 Min. Abstand) einerseits und die Clearance-Dauer andererseits in Rechnung zu stellen. Die Halbwertszeit von exogenem LH beim Rind beträgt ca. 35 Minuten (Schams & Karg, 1969 b).

Bemerkenswerte Erhöhungen, d.h. erhebliche Änderungen des Sekretionsrhythmus sollten deshalb in vorliegender Arbeit erfaßt worden sein. Bezüglich der Häufigkeit solcher LH-Erhöhungen kann festgestellt werden, daß in der Regel ein LH-Anstieg während der 8 Stunden Versuchszeit gemessen wurde.

Die bei dem Langzeitversuch (Bulle Kaliro, Abb. 10) festgestellten 3 LH-Erhöhungen wichen nicht wesentlich von dieser Größenordnung ab. Demgegenüber berichten Katongole et al. (1971) von 2 Bullen, daß innerhalb von 24 Stunden 5 - 10 LH-Peaks gefunden werden konnten, wobei auf einen regelmäßigen Rhythmus der LH-Freisetzung geschlossen wurde. Nach unseren Untersuchungen standen die Erhöhungen in keinem erkennbaren Zusammenhang und traten unregelmäßig auf, auch wurden keine Beziehungen zur Tageszeit, zu Ruheperioden oder Futteraufnahme festgestellt. Das entspricht auch den Ergebnissen und Interpretationen von Katongole und seinen Mitarbeitern.

Der Befund an der Kuh Wanda nimmt nur scheinbar eine Sonderstellung ein. Dieses Tier kam im Laufe des Versuchstages in Brunst, weshalb die LH-Erhöhung zu Beginn des Versuchs mit Sicherheit als präovulatorischer LH-Peak zu betrachten ist.

Diese Erhöhungen, die in keinem erkennbaren Zusammenhang zu irgendwelchen von außen auf die Tiere einwirkenden Ereignissen stehen, treten unregelmäßig auf. Auch bestand kein Zusammenhang zur Tageszeit, zu Ruheperioden oder zur Futteraufnahme.

Boyar et al. (1972) stellten dies ebenfalls beim Menschen fest. Sie fanden beim Menschen keine Beziehung zwischen LH-Basiswerten und Schlaf- bzw. Wachphasen. Auch konnte diese Arbeitsgruppe nachweisen, daß die Mehrzahl der LH-Episoden, die sie beim Menschen fanden, in einem bestimmten engen LH-Konzentrationsbereich ihren Anfang hatten. Diesen Bereich erhielten sie, indem sie den "low-set-point" für jede erhaltene LH-Kurve bestimmten, d.h. es wurde der Nanogrammbereich bestimmt, in welchem die Mehrzahl der Episoden ihren Anfang nahmen. Ebenso wurde ein "high-set-point" ermittelt, d.h. der Nanogrammbereich, in dem die Episoden ihr Ende hatten.

Einschränkend bezüglich der eigenen Ergebnisse muß allerdings gesagt werden, daß in vorliegender Arbeit nur solche Schwankungen der Meßwerte als quantitativ relevant gelten, die 1,5 ng LH/ml Plasma übersteigen. Sämtliche beschriebenen LH-Erhöhungen liegen deutlich über dieser Grenze.

Die Tatsache, daß die unregelmäßigen LH-Erhöhungen sowohl bei juvenilen als auch bei erwachsenen männlichen und weiblichen Tieren beobachtet wurden, weist darauf hin, daß hierfür der Steroideinfluß nicht maßgeblich ist. Somit bietet sich als Erklärung an, daß die LH-Freisetzung durch einen "short-loop-feedback"-Mechanismus moduliert wird. Dabei hätte das im peripheren Blut befindliche LH einen direkten Einfluß auf bestimmte Hypothalamusregionen. Sowohl die Arbeit von Boyar et al. (1972) als auch die eigenen Befunde lassen erkennen, daß auch eine einfache Erklärung der LH-Schwankungen im Sinne des "short-loop-feedback"-Mechanismus unzureichend ist. Inwieweit in dem komplizierten Mechanismus doch die Steroidhormone eingreifen, wie aus den Befunden von Kuhl et al. (1974) abgeleitet werden könnte, muß noch geklärt werden.

Zu dieser Fragestellung sind unsere Ergebnisse vom Kalb Gimpel von besonderem Interesse. Der Einfluß der Orchidektomie beschränkte sich offensichtlich auf signifikante Erhöhung des LH-Basispiegels. Einen ähnlichen Anstieg der LH-Basiswerte war bisher bei keinem vergleichbaren Tier nachgewiesen worden. Schwankungen der LH-Werte wurden sowohl vor als auch nach der Orchidektomie beobachtet. Eine Erhöhung des Serum-LH-Spiegels bei neugeborenen Schafen nach Entfernung der Hoden stellten in ähnlicher Weise auch Foster et al. (1972) fest.

Schams & Butz (1972a) beobachteten, daß bei weiblichen juvenilen Tieren in der 6. - 16. und 26. - 40. Lebenswoche gehäuft LH-Gipfel auftraten. Dabei entnahmen sie dreimal pro Woche Blut.

Um diese Befunde zu ergänzen, wurden weiblichen Kälbern in diesem Zeitraum drei- bis viermal täglich Blutproben entnommen und auf ihren LH-Gehalt getestet. Nur bei einem Kalb (Kleva, Abb. 7) konnte in der 35. - 36. Lebenswoche eine gesteigerte Sekretionsaktivität der Hypophyse bemerkt werden, allerdings wurden nicht so hohe LH-Werte gemessen, wie sie von o.a. Autoren berichtet wurden. Bei den übrigen Versuchen liegen die ermittelten Werte in diesen Zeiträumen jeweils bei den auch von Schams & Butz (1972a) ermittelten Basiswerten um 1 - 2 ng/ml Plasma. Nach Schams & Butz könnte dieser LH-Release ein Versuch sein, das zyklische Geschehen bei weiblichen Tieren in Gang zu setzen. Das teilweise Fehlen einer gesteigerten Aktivität in den angegebenen Zeiten sagt allerdings nur, daß individuelle Unterschiede im Auftreten bestehen können. Es sollte auch weiter untersucht werden, ob eine jahreszeitliche Abhängigkeit für diese präpubertären LH-Aktivitäten von Einfluß ist.

5.2. LH-Freisetzung durch Gn-RH

Die Ergebnisse zeigen, daß das synthetische Gn-Releasinghormon in jedem Fall eine LH-Freisetzung bei Kälbern bewirkte. Dabei wurden keine Unterschiede zwischen den Geschlechtern beobachtet. Überraschend war jedoch der Befund, daß erst ab einem bestimmten Lebensalter und Körpergewicht eine höhere Injektionsdosis von 250 µg Gn-RH auch eine eindeutig stärkere LH-Reaktion zur Folge hatte, als die niedrigere Dosis von z.B. 67 µg Gn-RH beim Kalb Gilch, Versuch am 19. Lebenstag. Diese bessere Ansprechbarkeit erfolgte etwa bei einem Alter von 50 - 100 Tagen. Dieser Befund würde dafür sprechen, daß erst ab einem bestimmten Lebensalter der LH-Vorrat der Hypophyse so groß ist, daß eine höhere Dosis auch eine höhere Wirkung erzielen kann.

Dies stimmt mit Versuchen von Debeljuk et al.(1972 b) überein, die nach intravenöser Gabe von Gn-RH an Ratten im Alter von 15, 25, 30, 35, 45, 60 und 240 Tagen die geringste Freisetzung im Alter von 15 Tagen beobachteten, während zu späteren Zeitpunkten mehr LH nach Gn-RH gemessen wurde.

Es ist denkbar, allerdings in vorliegender Arbeit nicht nachgeprüft, daß sich der Befund der grundsätzlichen LH-Freisetzung durch Gn-RH auch auf ein noch früheres Alter als in den hier beschriebenen Versuchen extrapolieren ließe. Daß beim Rind LH seit früher fötaler Zeit in der Hypophyse vorhanden ist und auch im zeitlichen Zusammenhang mit der Geburt durch Abfall reagiert, war erstmals von Karg (1967) mit biologischen Tests nachgewiesen worden. Es bietet sich also der Schluß an, daß die Rinderhypophyse schon von der Geburt an oder auch schon früher auf Gn-RH ansprechbar ist, wie dies Dunn (1973) für Schafföten nachwies. Der Zeitpunkt aber, ab welchem mit höheren Dosen Gn-RH mehr LH freigesetzt wird als mit kleinen, wird jedoch erst bei einem bestimmten Lebensalter erreicht.

Es läßt sich mit vorliegender Arbeit sicher feststellen, daß über den Zeitpunkt der Erreichung dieser Grenze der größeren Ansprechbarkeit der Hypophyse individuelle Unterschiede eine Rolle spielen.

Zur Frage, ob die LH-Freisetzung durch Gn-RH-Verabreichung zyklusabhängig ist, wurden bei 12 Versuchen übereinstimmende Ergebnisse erzielt. Die signifikant niedrigere Freisetzung um Zyklusmitte dürfte in Zusammenhang mit den kontinuierlich höheren Progesteronwerten stehen. Dies entspräche der bekannten Hemmwirkung im Rückkopplungsmechanismus auf die LH-Freisetzung. An den Versuchstagen mit höheren LH-Freisetzung, nämlich den Zyklustagen 4 und 5 bzw. 17 und 18, wurden tatsächlich auch niedrigere Progesteronwerte unter 1 ng/ml Plasma gemessen.

Zu ganz ähnlichen Ergebnissen kamen Arimura et al. (1972). Sie stellten bei Goldhamstern ebenfalls eine unterschiedliche LH-Freisetzung nach Gn-RH-Injektion fest. Am meisten LH wurde während des Proöstrus freigesetzt.

Beim Schaf beobachteten Sandow et al. (1973) eine vermehrte Freisetzung im Proöstrus und besonders während des Östrus.

Für die bessere Wirkung des Gn-RH zu diesem Zykluszeitpunkt dürften auch die Östrogene eine Rolle spielen, die in dieser Zeit erhöht sind (Henricks et al., 1971).

5.3. Versuche mit Prostaglandinen

Die Versuche mit dem Prostaglandin $F_{2\alpha}$ zeigen, daß es mit Dosierungen zwischen 20 mg und 40 mg $PgF_{2\alpha}$ (z.T. i.m. und i.v. verabreicht) bei einmaliger Applikation in keinem der 4 Fälle gelungen ist, eine vollständige Luteolyse einzuleiten. Eine stattgehabte Luteolyse würde sich in jedem Fall im Progesteronspiegel des Blutplasmas ausdrücken. In dem genannten Dosisbereich zeigte sich immer eine "Teilluteolyse", d.h. ein vorübergehendes Absinken der Sekretionsleistung des Gelbkörpers. Die volle Sekretion des Gelbkörpers wurde nach der "Teilluteolyse" wieder erreicht (s. Abb. 23, Flora), oder die Progesteronwerte blieben auf einem niedrigeren Niveau bis zum endgültigen Absinken während der nächsten Brunst. Eine Brunst mit Ovulation als direkte Folge der $PgF_{2\alpha}$ -Injektion konnte nicht beobachtet werden. Allerdings trat die nächste zu erwartende Brunst verfrüht auf (Tab. 10). Das Ausbleiben einer Brunst steht in scheinbarem Widerspruch zu einer Arbeit von Lamond et al. (1973), die nach intravenöser Injektion von 20 mg $PgF_{2\alpha}$ während der Gelbkörperphase 3 Tage nach der Behandlung eine Brunst beobachteten. Auch von Roche (1974) wird neuerdings über die hohe luteolytische Aktivität von $PgF_{2\alpha}$ bei Hereford-Kalbinnen berichtet.

Sowohl mit einer Dosis von 30 mg als auch mit 20 mg $\text{PgF}_{2\alpha}$ erreichte er eine gute Synchronisation der Brunst, d.h. die Mehrzahl der zwischen dem 5. und 20. Zyklustag behandelten Tiere rinderten innerhalb von 4 Tagen. Sobald die Tiere rinderten, wurden sie einzeln in gegebenem Zeitabstand vom Brunsttermin künstlich besamt. Die dabei erzielte Fruchtbarkeit war mit einer unbehandelten Kontrollgruppe durchaus zu vergleichen.

Für diesen Widerspruch, der aus vorliegender Arbeit und den entsprechenden Literaturstellen entsteht, lassen sich keine methodisch bedingten Gründe finden, da wir nach Angaben der Hersteller mit Präparaten entsprechender Provinienz und mit zwei verschiedenen Chargen, dabei übereinstimmendem Ergebnis, gearbeitet haben. Auch die Handhabung der Präparationen (Lösung, Lösungsmittel, Injektionstechnik, Injektionsgeschwindigkeit) erfolgte nach Angaben von Lamond et.al. (1973). Daß ein unterschiedliches Körpergewicht für diese Diskrepanz ausschlaggebend sein sollte, dürfte durch die Feststellung, daß selbst 40 mg $\text{PgF}_{2\alpha}$ bei unseren Tieren (im Gegensatz zu den immer sicher wirkenden 20 mg bei den Versuchen von Lamond et al. (1973)) nicht erfolgreich waren, auszuschließen sein. Ob andere rassebedingte Unterschiede bei unseren Ergebnissen eine Rolle spielen, muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Die Dosis über 40 mg $\text{PgF}_{2\alpha}$ in weiteren Versuchen zu erhöhen, konnte nicht in Erwägung gezogen werden, da die im Ergebnisteil (S.70) beschriebenen Nebenwirkungen in noch stärkerem Ausmaß befürchtet werden mußten.

Es wurde deshalb versucht, mit 2 Injektionen von $\text{PgF}_{2\alpha}$ in 7-stündlichem Abstand eine rasche und vollständige Luteolyse zu erreichen. Abb. 24 (unten) zeigt, daß die 1. Injektion zwar wieder luteolytisch war, daß aber höchstwahrscheinlich wieder ein "Restgelbkörper" die Progesteronsekretion aufrechterhalten hätte. Die 2. Injektion erbrachte erst eine vollständige Luteolyse. Am 3. Tag nach der Injektion kam es

zur Brunst und die Ovulation konnte am 4. Tag beobachtet werden.

Ebenso erfolgreich war die gleichzeitige intramuskuläre und intravaginale Injektion von $\text{PgF}_{2\alpha}$. Hier scheinen unterschiedliche Resorptionsverhältnisse ausschlaggebend für die vollständige Luteolyse gewesen zu sein. Im Anschluß an die $\text{PgF}_{2\alpha}$ -Injektion wurde bei manchen Versuchen ein kurzfristiges und sehr steiles Ansteigen der Progesteronwerte im Blutplasma beobachtet. Auf welche Vorgänge dieses auch von anderen beobachtete Phänomen (Hafs, pers. Mitt.) zurückzuführen ist, kann vorläufig nicht beantwortet werden.

Die Versuche mit dem Prostaglandinanalogue ICI 80996 zeigen, daß es in jedem der 7 Fälle gelungen ist, mit einer Dosis von 0,5 mg intramuskulär eine Luteolyse innerhalb von durchschnittlich 18,7 Stunden herbeizuführen. Aus den Abb. 25 und 26 ist zu ersehen, daß die Brunst nach etwa 3 Tagen und die Ovulation nach 110 Stunden eintrat. Eine Ausnahme bildet die Kalbin Helga, welche erst am 5. Tag nach der Injektion rinderte und 148 Stunden nach der Injektion ovulierte. Dabei fällt allerdings auf, daß dieses Tier den höchsten Progesteronausgangswert hatte. Wie schon erwähnt, war bei der Kalbin Helga zu Versuchsbeginn ein erbsengroßer Follikel am Ovar fühlbar, welcher bei der rektalen Untersuchung versehentlich platzte. Dies mag ein Grund für den relativ verspäteten Eintritt der Brunst sein.

(Warum bei der Kuh Zilla, die im Rahmen dieser Versuchsreihe behandelt und untersucht wurde, der präovulatorische LH-Peak nicht gemessen werden konnte, obwohl am 4. Tag Brunst eintrat und 120 Stunden nach der Injektion die Ovulation, sollte nicht funktionell diskutiert werden. Es ist durchaus denkbar, daß - selbst bei Blutentnahmeintervallen von 6 Stunden - ein solcher LH-Peak, für den

Schams & Butz (1972 b) eine Erscheinungsdauer von $5,0 \pm 1,3$ Stunden festgestellt hatten, einmal nicht erfaßt werden kann.)

Mit einem Vorläufer des hier benutzten Prostaglandin-analogs, nämlich ICI 79939, behandelten Tervit et al. (1973) Kalbinnen. Eine befriedigende Synchronisation der Brunst erreichten sie aber nur durch Behandlung an zwei aufeinanderfolgenden Tagen oder wenn die Tiere mit PMSG vorbehandelt waren.

Es läßt sich deshalb feststellen, daß das ICI-Analog 80996 wirkungsvoller ist, zumal auf eine Vorbehandlung mit einem Gonadotropin verzichtet werden kann und eine einmalige Injektion ausreicht.

In einer 2. Versuchsreihe wurden 10 Kalbinnen und Kühe wiederum mit dem $\text{PgF}_{2\alpha}$ -Analog ICI 80996 behandelt und 75 Stunden nach der Injektion künstlich besamt. Hierbei zeigte sich eine exakte Synchronisation. Neun der zehn Tiere rinderten deutlich am 3. Tag nach der Behandlung. Die Injektion von $1500 \mu\text{g}$ Gn-RH gleichzeitig mit der Besamung war hier offensichtlich von starkem Einfluß auf die Ovulation. In 4 der 10 Fälle wurde nur ein LH-Peak festgestellt. Eine Erklärung hierfür ist, daß möglicherweise die Injektion des Releasinhormons während des Auftretens des physiologischen LH-Peaks erfolgte. Dies ist bei der Kuh Xanta (Abb. 27) nachgewiesenermaßen der Fall.

Die Ovulation erfolgte im Durchschnitt 82,5 Stunden nach der Behandlung, also in einem günstigen Abstand von der Besamung, die nach 75 Stunden erfolgte.

Betrachtet man vergleichend die Tab. 11 und 12 in Bezug auf die Ovulation, so sieht man, daß stark hinausgezögerte Ovulationen, wie sie bei den Tieren Rita, Helga, Zilla und Uta auftraten, nach der Injektion von $1500 \mu\text{g}$ Gn-RH nicht

mehr auftreten. Man muß also annehmen, daß eine relative Vorverlegung der Ovulation durch Gn-RH bewirkt wurde.

Wie aus Tab. 12 hervorgeht, konzipierten 9 von 10 Tieren bei der Besamung 75 Stunden nach der Injektion des Prostaglandinanalogs ICI 80996. Aus der Tab. 12 ist ebenfalls zu ersehen, daß das eine nicht trächtig gewordene Tier bereits 6 Stunden vor der Besamung ovulierte und also hierin eindeutig der Grund für die Nichtkonzeption zu suchen ist.

Es läßt sich somit feststellen, daß das zur Verfügung stehende $\text{PgF}_{2\alpha}$ -Analog ICI 80996 eine exakte Synchronisation der Brunst bewirkt, wenn es zu einem Zykluszeitpunkt, in dem ein sezernierender Gelbkörper vorhanden ist, injiziert wird.

Etwaige auftretende verzögerte Ovulationen lassen sich mit Hilfe des Gn-RH in einen günstigen zeitlichen Zusammenhang zur Besamung bringen.

Diese Art der Zyklussynchronisation setzt allerdings voraus, daß der Zyklusstand einer Herde im einzelnen bekannt ist. Dies ist unter Praxisbedingungen, insbesondere bei Kalbinnen in Herdenhaltung, immer mit äußersten Schwierigkeiten verbunden. Mit geeigneter Versuchsanordnung, z.B. 2 Injektionen in geeignetem Abstand, wäre dieses Problem eventuell zu beseitigen. Diesbezügliche Versuche sind in Konsequenz vorliegender Arbeit unter den Bedingungen von Feldversuchen inzwischen aufgenommen worden.

Zusammenfassung

1. Männlichen und weiblichen Kälbern wurde in verschiedenen Altersstufen Blut in viertelstündlichen Intervallen entnommen und mit Hilfe eines Radioimmunotests auf LH untersucht. Dabei konnten in der achtstündigen Entnahmezeit i.d.R. 1 oder 2 "episodische" Erhöhungen gemessen werden, die keinen erkennbaren Einflüssen zuzuordnen waren.
2. Einem Bullen und zwei weiblichen Rindern wurde über einen Zeitraum von ca. 30 Stunden Blut viertelstündlich entnommen und auf LH getestet. Dabei wurden "episodische" LH-Erhöhungen gemessen, die keine Rhythmizität aufwiesen, ebensowenig ließen sich diese Erhöhungen äußeren Einflüssen zuordnen.
3. Durch Orchidektomie eines 4 Wochen alten Kalbes wurde gezeigt, daß diese lediglich einen Einfluß auf den durchschnittlichen LH-Spiegel in Form von signifikanter Erhöhung hatte. Bei den 8 Stunden dauernden viertelstündlichen Blutentnahmen wurden sowohl vor als auch nach der Orchidektomie unregelmäßige "episodische" LH-Schwankungen festgestellt.
4. Bei den Versuchen zur LH-Freisetzung durch Gn-RH bei männlichen und weiblichen Kälbern wurde festgestellt, daß die Hypophyse im frühen Lebensalter weniger auf Gn-RH ansprechbar ist. Die Ansprechbarkeit nimmt mit steigendem Alter zu.

5. Wurden gleiche Dosierungen von Gn-RH am 4. - 5., 11. - 12., oder 17. - 18. Zyklustag verabreicht, so konnte am 17. - 18. Zyklustag eine signifikant höhere Freisetzung gegenüber den Tagen 11 und 12 beobachtet werden.
6. Bei den Versuchen, mit dem Prostaglandin $F_{2\alpha}$ eine Luteolyse auszulösen, konnte bei keiner Dosierung und Injektionsart nach einmaliger Verabreichung eine vollständige Luteolyse erreicht werden. Erst bei 2-maliger Injektion in 7-stündlichem Abstand sowie bei gleichzeitiger intramuskulärer und intravaginaler Applikation wurde eine Luteolyse erzielt und eine Brunst mit Ovulation am 3. Tag nach der Injektion ausgelöst.
7. Bei jedem mit dem $PgF_{2\alpha}$ -Analog ICI 80996 um Zyklusmitte behandelten Tier wurde eine Luteolyse ausgelöst und am 3. Tag nach der Injektion eine Brunst mit Ovulation beobachtet.
8. Die nach der Behandlung mit dem ICI-Analog 80996 auftretenden Schwankungen des Ovulationszeitpunktes wurden nach Injektion von Gn-RH 75 Stunden nach der Injektion des Prostaglandinanalogs nicht mehr beobachtet.
9. Von 10 Tieren, die nach Applikation von Pg -Analog ICI 80996 besamt wurden, waren 9 Tiere trächtig, 1 Tier ovulierte nachweislich vor der künstlichen Besamung und war nicht trächtig.

Summary

1. Blood was collected at 15-min. intervals from male and female calves of different ages. LH was determined by means of a radioimmunoassay. 1 or 2 "episodic" surges could be detected over the 8-hour duration of experiment but no recognizable influences eliciting them could be ascertained.
2. Over a period of about 30 hours blood was collected at 15-minute intervals from one bull and two cows and assayed for LH. "Episodic" LH surges were determined showing no rhythmicity and due to no clear outward influences.
3. Orchidectomy of a 4-week old calf was shown only to affect the basic LH-level, involving a significant rise. From the blood samples taken at 15-min. intervals over a period of 8 hours irregular "episodic" LH fluctuations were determined before as well as after orchidectomy.
4. Experiments on LH-release by Gn-RH in male and female calves showed that the pituitary is less affected by Gn-RH at an early age. The effect becomes more potent with age.
5. When the same dosages of Gn-RH were administered on the 4th - 5th day; 11th - 12th; or 17th - 18th day of oestrus, a significantly higher release could be observed on the 17th - 18th day of oestrus compared to day 11 and 12.

6. In experiments with the prostaglandin $F_{2\alpha}$ carried out to induce luteolysis, a complete luteolysis could not be obtained after a single administration either with another dosage or another kind of injection. Only after a twofold injection at intervals of 7 hours as well as after simultaneous intramuscular and intravaginal application a luteolysis was brought about and an oestrus with ovulation was induced on the 3rd day after the injection.
7. In all animals treated with the $PgF_{2\alpha}$ -analogue ICI 80996 in the middle of the oestrus cycle, a luteolysis was induced and on the 3rd day after the injection an oestrus with ovulation could be observed.
8. The fluctuations of the time of ovulation following treatment with the ICI 80996 analogue could no longer be observed after injection of Gn-RH 75 hours after injection of the prostaglandin analogue.
9. Of 10 animals inseminated after administration of Pg -analogue ICI 80996, 9 animals were pregnant, 1 animal was proved to have ovulated before artificial insemination and was not pregnant.

7. Literaturverzeichnis

- Allen W.R., Rowson L.E.A. 1973
Control of the mare's estrous cycle by
prostaglandins
J.Reprod. Fert. 33, 539
- Anderson L.L., Bland K.P., Melampy R.M. 1969
Comparative aspects of uterine-luteal
relationships
Rec. Progr. Horm. Res. 25, 57
- Anderson L.L., Neal F.C., Melampy R.M. 1962
Hysterectomy and ovarian functions in
beef heifers
Amer. J. vet. Res. 23, 794
- Antunes-Rodrigues J., Dhariwal A.P.S., McCann S.M. 1966
Effect of purified luteinizing hormone-releasing
factor (LH-RF) on plasma LH-activity at various
stages of the estrous cycle of the rat
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 122, 1001
- Arimura A., Matsuo H., Baba Y., Schally A.V. 1971
Ovulation induced by synthetic luteinizing
hormone-releasing hormone
Science 174, 511
- Arimura A., Debeljuk L., Schally A.V. 1972
LH release by LH-releasing hormone in
golden hamsters at various stages of estrous cycle
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 140, 609

- Barett S., Blockley M.A., Brown J.M., Cumming J.A.
Goding J.R., Mole B.J., Obst J.M. 1971
Initiation of the estrous cycle in the ewe by
infusions of $\text{PgF}_{2\alpha}$ to the autotransplanted ovary
J. Reprod. Fert. 24, 136
- Beling C.G., Marcus S.L., Markham S.M. 1970
Functional activity of the corpus luteum
following hysterectomy
J. Clin. Endocr. 30, 30
- Bergström S., Ryhage R., Samuelson B., Sjövall J. 1962
The structure of prostaglandin E_1 , $\text{F}_{2\alpha}$
Acta Chem. Scand. 16, 501
- Bergström S., Danielson H., Samuelson B. 1964
The enzymatic formation of prostaglandin E_2
from arachidonic acid
Biochem. Biophys. Acta. 90, 207
- Blachley F.R., Donovan B.T., Poyser N.L.,
Horton E.W., Thompson C.J., Los M. 1971
Identification of prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$ in the utero-
ovarian blood of guinea-pig after treatment with
oestrogen
Nature (Lond.) 230, 243
- Bland K.P., Horton E.W., Poyser N.L., 1971
Levels of prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$ in the uterine
venous blood of sheep during the estrous cycle
Life Sciences Vol 10, Part I, 509

Boyar R., Perlow M., Hellman L., Kapen S., Weitzmann E. 1972
Twenty-four hour pattern of luteinizing hormone
secretion in normal men with sleep stage recording
J. Clin. Endocrinol. Metab 35, 73

Bujanow A.A. 1972
Gonadotrope Hormone im Blut und histologischer Aufbau
des Endometriums bei normalen und anovulatorischen
Geschlechtszyklen sowie bei follikulären Zysten der
Eierstöcke
VII. Internationaler Kongreß für tierische Fort-
pflanzung und Haustierbesamung, München, Band I,
S. 646

Butler W.R., Malven P.V., Willet L.B., Bolt D.J. 1972
Patterns of pituitary release and cranial output
of LH and prolactin in ovariectomized ewes
Endocrinology 91, 793

Chamley W.A., Buckmaster J.M., Cain M.D., Cerini J.,
Cerini M.E., Cumming J.A., Goding J.R. 1972
The effect of prostaglandin F_{2α} on progesterone,
oestradiol and luteinizing hormon secretion in
sheep with ovarian transplants
J. Endocr. 55, 253

Chasalow F.J., Pharris B.B. 1972
Luteinizing hormone stimulation of ovarian
prostaglandin biosynthesis
Prostaglandins 1, 107

- Corbin A., 1966
Pituitary and plasma LH of ovariectomized rats
with median eminence implants of LH
Endocrinology 78, 893
- Corbin A., Cohen A., 1966
Effect of median eminence implants of LH
on pituitary LH of female rats
Endocrinology 78, 41
- Coudert S.P., Phillips G.D., Faiman C., Chernecki W.,
Palmer M. 1974 a
A study of the utero-ovarian circulation in sheep
with reference to local transfer between venous
and arterial blood
J. Reprod. Fert. 36, 319
- Coudert S.P., Phillips G.D., Faiman C., Chernecki W.,
Palmer M. 1974 b
Infusion of tritiated prostaglandin $F_{2\alpha}$ into the
anterior uterine vein of the ewe: Absence of
local venous arterial transfer
J. Reprod. Fert. 36, 333
- David M., Fraschini F., Martini L. 1966
Control of LH secretion: Role of a "short"
feedback mechanism
Endocrinology 78, 55
- Debeljuk L., Arimura A., Schally A.V. 1972 a
Effect of estradiol and progesterone on the
LH-release induced by LH-releasing hormone (LH-RH)
in intact diestrous rats and anestrous ewes
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 139, 774

- Debeljuk L., Arimura A., Schally A.V. 1972 b
Pituitary responsiveness to LH-releasing hormone
in intact female rats of different ages
Endocrinology 90, 585
- Dorp D.A., Beerthuis R.K., Nugteren D.H., Vonkeman H. 1964
The biosynthesis of prostaglandins
Biochem. Biophys. Acta 90, 214
- Dunn T.G., Kaltenbach C.C., Kiser T.E. 1973
Release of fetal ovine LH by synthetisk Gn-RH
J. Anim. Science 37, 308
- Ellendorf F., Pomerantz D.K., Elsaesser F.,
Parvizi W., Smidt D., König A. 1973
Response of plasma LH in male pigs to synthetic
LH/FSH RH
19. Symp. Dtsch. Ges. Endocrin. Acta endocr. (Kbh)
Suppl. 173, 83
- Ellis S., Perry M. 1966
Pituitary arylamidases and peptidases
J. Biol. Chem. 241, 3679
- Ender M.L., 1974
Radioimmunologische Progesteronbestimmung im
peripheren Rinderblut: Methodische Entwicklungs-
arbeiten, Erhebungen bei physiologischen, patho-
physiologischen und biotechnisch beeinflussten
Situationen
Dissertation agr. T.U. München, Weihenstephan

- Foster D.L., Cook B., Nalbandov A.V. 1972
Regulation of luteinizing hormone (LH) in the
fetal and neonatal lamb: Effect of castration
during the early postnatal period on the levels
of LH in sera and pituitaries of neonatal lambs
Biol. Reprod. 6, 253
- Gay V.L., Midgley A.R. Jr., Niswender G.D. 1970
Patterns of gonadotrophin secretion associated
with ovulation
Fed. Proc. 29, 1880
- Gay V.L., Sheth N.A. 1972
Evidence for a periodic release of LH in castrated
male and female rats
Endocrinology 90, 158
- Goding J.R., Baird D.T., Cumming J.A., McCracken J.A. 1971
Functional assessment of autotransplanted
endocrin organs
4th Karolinska Symposium on research methods in
reproductive endocrinology p. 169
- Hansel W., Concannon P.W., Lukaszewska J.H. 1972
Corpora lutea of the large domestic animals
Biol. Reprod. 8, 222
- Hansel W., Snook B.S. 1970
Pituitary ovarian relationship in the cow
J. Dairy Sci. 53, 945
- Henricks D.M., Dickey J.F., Niswender D.G. 1970
Serum luteinizing hormone and plasma progesterone
levels during the estrous cycle and early
pregnancy in cows
Biol. Reprod. 2, 346

- Henricks D.M., Dickey J.F., Hill J.R. 1971
Plasma estrogen and progesterone levels in cows
prior to and during estrus
Endocrinology 89, 1350
- Henricks D.M., Oxenreider S.L., Anderson L.L. 1969
Ovarian function after hypophyseal stalk
transection in the cow
Amer. J. Physiol. 216, 1213
- Hirano M., Igarashi M., Matsumoto S. 1971
Short- and auto-feedback mechanism of LH
Endocrinol. Japon. 18, (2) 175
- Hoffmann B., 1972 a
Bestimmung von Steroidhormonen beim weiblichen
Rind. Entwicklung von Meßverfahren und physiolo-
gische Daten
Habilitationsschrift, T.U. München Weihenstephan
- Hoffmann B., 1972 b
Bestimmung von Östrogenen
In: Fortschritte der klinischen Chemie
Enzyme und Hormone
Kaiser E., Ed.
Verlag der Wiener Medizinischen Akademie, S. 491
- Hohlweg W., Junkmann 1932
Die hormonal-nervöse Regulierung der Funktion
des HVL
Klin. Wochenschr. 11, 321
- Horton E.W., Thompson C., Jones R., Poyser N. 1971
Release of prostaglandins
Ann. N. Y. Acad. Sci. 180, 351

Inskeep E.K., 1973

Potential uses of prostaglandins in control
of reproductive cycles of domestic animals
J. Anim. Scien. 36, 6

Karg H. 1967

Untersuchungen über das gonadotrope Hypophysen-
hormon LH (ICSH) während der Entwicklung beim
Rind
Zuchthygiene, 2, 12

Karg H. 1972

Neuere Erkenntnisse über die zyklische Wirkung
hypophysärer Gonadotropine
VII. Internationaler Kongreß für tierische Fort-
pflanzung, München, Band I, S. 45

Karg H., Aust D., Böhm S. 1967

Versuche zur Bestimmung des Luteinisierungshormons
(LH) im Blut von Kühen unter Berücksichtigung des
Zyklus
Zuchthygiene 2, 55

Karg H., Schams D., 1970

Comparative aspects of pituitary pattern of
sexual functions
21. Mosbacher Coll. "Mammalian Reproduction (H.Gibian,
E.J. Plotz ed.) Springer Verlag, Berlin - Heidelberg -
New York, S. 88

Karg H., Schams D. 1968

Attempts to determine LH in bovine blood
Excerpta Medica Foundation, ICS 161, part 2, 415

- Katongole C.B., Naftolin F., Short R.V. 1971
Relationship between blood levels of luteinizing hormone and testosterone in bulls, and the effects of sexual stimulation
J. Endocr. 50, 457
- Kuhl H., Rosniatowski C., Taubert H.D. 1974
The role of hypothalamic L-cystine arylamidase activity in the feed-back mechanism of gonadotrophin release
20. Symp. Dtsch. Ges. Endokrin.
Acta endocrin. (Kbh) Suppl. 184, 16
- Lamond D.R., Tomlinson R.V., Drost M., Henricks D.M., Jöchle W. 1973
Studies of prostaglandin $F_{2\alpha}$ in the cow
Prostaglandins 4, 2
- Lauderdale J.W., Chenault J.R., Sequin B.E., Thatcher W.W. 1973
Fertility of cattle after $PgF_{2\alpha}$ -treatment
J. Animal Science 37, 319
- Loeb L., 1927
The effects of hysterectomy on the system of sex organs and on the periodicity of the sexual cycle in the guinea-pig
Amer. J. Physiol. 83, 202
- Luis T.M., Hafs H.D., Sequin B.E. 1973
Progesterone, LH, estrus and ovulation after $PgF_{2\alpha}$ in heifers
Proc. Soc. Expec. Biol. Med. 143, 152

- Matsuo H., Baba Y., Nair R.M.G., Arimura A.,
Schally A.V., 1971 a
Structure of the porcine LH and FSH-releasing
hormone. The proposed amino acid sequence
Biochem. Biophys. Res. Comm. 43, 1334
- Matsuo H., Arimura A., Nair R.M.G., Schally A.V. 1971 b
The synthesis of porcine LH- and FSH-releasing
hormone by the solid-phase method
Biochem. Biophys. Res. Comm. 45, 822
- McCann S.M., Antunes-Rodrigues J., Watanabe S.,
Ratner A., Dhariwal A.P.S. 1967
Regulation of gonadotrophin and prolactin secretion
by hypothalamic neurohumoral factors
Hormonal steroids (1967) p. 288
- McCann S.M., Taleisnik S., Friedmann H.M. 1960
LH-releasing activity in hypothalamic extracts
Proc. Soc. Expec. Biol. Med. 104, 432
- Malven P.V., Hansel W., 1964
Ovarian function in dairy heifers following
hysterectomy
J. Dairy Sci. 47, 1388
- McCracken J.A., Glew M.E., Scaramuzzi R.J. 1970
Corpus luteum regression induced by prostaglandin
F_{2α}
J. Clin. Endocr. and Metab. 30, 544
- McCracken J. 1972
The role of prostaglandins in luteal regression
In prostaglandins in fertility control II. WHO
research and training centre on human reproduction.
Karolinska Institut, Stockholm, Sweden (Eds.
Bergström S., Green K., Samuelson B.) p. 234

- McCracken J. 1971
Prostaglandins and corpus luteum regression
Ann. N.Y. Acad. Sci. 180, 456
- Metzger E., Freytag R., Leidl W. 1972
Gerät zur Messung der elektrischen Leitfähigkeit
des Vaginalschleims für die Brunstfeststellung
beim Rind
Zuchthygiene, 7, 56
- Murray M.A.F., Corker C.S. 1972
Levels of testosterone and luteinizing hormone
in plasma samples taken at 10-minute intervals
in normal men
J. Endocr. 56, 157
- Nallar R., McCann S.M. 1965
Luteinizing hormone-releasing activity in plasma
of hypophysectomized rats
Endocrin. 76, 272
- Pharris B.B. 1971
Prostaglandin induction of luteolysis
Ann. N.Y. Acad. Sci. 180, 436
- Pharris B.B., Wyngarden L.J. 1969
The effect of $\text{PgF}_{2\alpha}$ on the progestogen content
of the ovaries from pseudopregnant rats
Proc. Soc. Expec. Biol. Med. 130, 92
- Poyser N.L., Horton E.W., Thompson C.J., Los M. 1970
Identification of prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$ released by
distension of the guinea pig uterus in vivo
J. Endocrin. 48, XI iii

- Reeves J.J., Arimura A., Schally A.V. 1971
Pituitary responsiveness to purified luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) at various stages of the estrous cycle in sheep
J. Animal Sci. 32, 89
- Rowson L.E.A., Tervit R., Brand A. 1972
The use of prostaglandins for synchronization of estrous in cattle
J. Reprod. Fert. 29, 145
- Roche J.F., 1974
Synchronization of oestrus and fertility following artificial insemination in heifers given prostaglandin F_{2α}
J. Reprod. Fert. 37, 135
- Sandow J., Seeger R., Heptner W., König W., 1973
Pituitary reserve capacity and pituitary responsiveness to LH-RH during the estrus cycle in sheep
Acta endocr. (Kbh) Suppl. 173, 84
- Schally A.V., Arimura A., Baba Y., Nair R.M.G., Matsuo H., Redding T.W., Debeljuk L., 1971
Isolation and properties of the LH and FSH releasing hormone
Biochem. Biophys. Res. Comm. 43, 393
- Schams D., Butz H.D., 1972 a
Plasmaspiegel von LH bei weiblichen und männlichen Rindern vom Tage der Geburt bis zum Eintritt der Pubertät
VII. Internationaler Kongreß für tierische Fortpflanzung und Haustierbesamung München
Band III S. 2175

- Schams D., Butz H.D. 1972 b
Zeitliche Beziehung zwischen Brunstsymptomen,
elektrischen Widerstandsveränderungen des Vaginal-
schleims, präovulatorischer Ausschüttung des
Luteinisierungshormons und Ovulation beim Rind
Zuchthygiene, 7, 49
- Schams D., Karg H. 1969 a
Radioimmunologische LH-Bestimmung im Blutserum
vom Rind unter Berücksichtigung des Brunstzyklus
Acta endocrin. 61, 96
- Schams D., Karg H. 1969 b
Zeitlicher Verlauf und analytische Erfassbarkeit
des endogen bzw. exogen erhöhten Blutspiegels an
Luteinisierungshormon beim Rind
Zuchthygiene, 4, 61
- Schams D., Höfer F., Schallenger E., Hartl M.,
Karg H. 1974
Release pattern of luteinizing hormone (LH) and
follicle stimulating hormone (FSH) in the bovine
after injection of a synthetic gonadotropin-releasing
hormone (Gn-RH)
Theriogenology (in Druck)
- Schams D., Schallenger E. 1974
Die Bestimmung von Rinder-FSH mit Hilfe einer
radioimmunologischen Methode - Physiologische
Ergebnisse
Tagung: Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung
der Haustiere, München. Zuchthygiene (in Druck)
- Schneider H.P.G., McCann S.M. 1970
Release of LH-releasing factor (LRF) into the
peripheral circulation of hypophysectomized rats
by dopamine and its blockage by estradiol
Endocr. 87, 249

- Short R.V., 1967
Reproduction
Ann. Rev. Physiol. 28, 373
- Stellflug J.N., Luis T.M., Sequin B.E., Hafs D.H. 1973
Luteolysis after 30 or 60 mg $PgF_{2\alpha}$ in heifers
J. Animal Sci. 37, 330
- Souvatzoglou A., Metzger J., Kullak.W., Butenandt O.,
Henderkott U. 1973
The functional significance of "episodic" secretion
Acta endocr. (Kbh) Suppl. 173 (1973) 42
- Suskiw J.B., Brecher A.S., 1970
Brain aminoacyl arylamidase. Further purification
of the soluble bovine enzyme and studies on substrate
spezifity and possible active-site residues
Biochemistry 9, 20
- Tervit H.R., Rowson L.E.A., Brand A. 1973
Synchronization of oestrus in cattle using a
prostaglandin analog
J. Reprod. Fert. 34, 179
- Thomas K., Malvaux P., Ferin J. 1972
LH and FSH releasing potency of the synthetic
decapeptid p-glu-his-trp-ser-tyr-gly-leu-argpro-
gly-NH₂ in normal prepuberal boys
J. Clin. Endocr. Metabol. 35, 938
- Thorburn D.G., Cox R.I., Currie W.B., Restall B.J.,
Schneider W. 1972
Prostaglandin F concentration in the utero-ovarian
venous plasma of the ewe during the oestrous cycle
J. Endocr. 53, 325

Wilks J.W., Hunter K.K., Norland J.F. 1972
Prostaglandin $F_{2\alpha}$ synthesis by the rabbit ovary,
uterus and uterine cervix
Biol. Reprod. 7, 105 Abstr.

Wiltbank J.N., Casida L.E., 1956
Alteration of ovarian activity by hysterectomy
J. Anim. Sci. 15, 134

Herrn Professor Dr. Heinrich Karg möchte ich für die freundliche Überlassung des Themas, seine wissenschaftlichen Anregungen sowie für die großzügigen Arbeitsmöglichkeiten in seinem Institut meinen besonderen Dank sagen.

Insbesondere danke ich Herrn Priv. Doz. Dr. Dieter Schams für die methodische Einarbeitung und die zahlreichen Ratschläge und Diskussionen.

Mein Dank gilt auch Herrn Priv. Doz. Dr. Bernd Hoffmann und Mitarbeitern, die den Progesterongehalt der Blutproben bestimmt haben.

Frau Erna Eschenbach und Herrn Jakob Oberpriller möchte ich für die Anfertigung der Abbildungen danken.

Während des Zeitraumes der Anfertigung der Dissertation wurde ich durch ein Stipendium nach dem Graduiertenförderungsgesetz finanziell unterstützt, wofür ich mich an dieser Stelle herzlich bedanke.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei allen Mitarbeitern des Instituts und den Angestellten der Versuchsstation Veitshof für die zahlreichen kleinen Hilfestellungen bedanken.

Lebenslauf

Am 5. Januar 1947 wurde ich, Max Hartl, als Sohn des Bundesbahnbediensteten Max Hartl und seiner Frau Magdalena, geborene Fertl, in Oberhummel, Kreis Freising, geboren.

Von 1953 bis 1960 besuchte ich die Volksschule in Oberhummel, Landkreis Freising. Anschließend trat ich in das Camerloher Gymnasium in Freising über und legte dort 1967 die Reifeprüfung ab.

Im Wintersemester 1967/68 schrieb ich mich an der Ludwig-Maximilians-Universität München für das Studium der Tiermedizin ein. Im Oktober 1972 schloß ich diese Fachrichtung mit dem Staatsexamen ab.

Von Anfang Dezember 1972 bis Anfang Mai 1974 arbeitete ich am Institut für Physiologie der Südd. Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Weißenstephan. In dieser Zeit fertigte ich die vorliegende Dissertation an.

